

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

-----*-----

VŨ VI QUỐC

**THỰC TRẠNG, CĂN NGUYÊN VIÊM NÃO VI RÚT
VÀ CHI PHÍ ĐIỀU TRỊ TRỰC TIẾP
CHO NGƯỜI BỆNH TẠI 3 TỈNH TÂY BẮC
VIỆT NAM, 2017 - 2018**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y TẾ CÔNG CỘNG

HÀ NỘI – 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

-----*-----

VŨ VI QUỐC

**THỰC TRẠNG, CĂN NGUYÊN VIÊM NÃO VI RÚT
VÀ CHI PHÍ ĐIỀU TRỊ TRỰC TIẾP
CHO NGƯỜI BỆNH TẠI 3 TỈNH TÂY BẮC
VIỆT NAM, 2017 - 2018**

Chuyên ngành: Y TẾ CÔNG CỘNG

Mã số: 62 72 03 01

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y TẾ CÔNG CỘNG

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS TRẦN NHƯ DƯƠNG

2. TS. HOÀNG MINH ĐỨC

HÀ NỘI – 2021

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi với sự hợp tác của đồng nghiệp và đã được sự đồng ý của Chủ nhiệm đề tài cấp Bộ cho công bố luận án này.

Kết quả nghiên cứu trong luận án là trung thực và chưa từng công bố trong bất kỳ một công trình nào khác.

Tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm về những lời cam đoan này.

Hà Nội, ngày tháng năm 2021

Tác giả luận án

Vũ Vi Quốc

LỜI CẢM ƠN

Với lòng biết ơn sâu sắc, tôi xin trân trọng cảm ơn: PGS.TS. Trần Như Dương, Phó Viện trưởng, Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương và TS. Hoàng Minh Đức, Phó Cục trưởng Cục Y tế dự phòng, Bộ Y tế là những người thầy đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ, động viên tôi trong suốt quá trình học tập, xây dựng đề cương, thu thập, phân tích số liệu, viết báo cáo và hoàn thiện luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới Ban lãnh đạo Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương, Khoa Dịch tễ, Khoa Côn trùng và Động vật y học, Khoa Vi rút, Trung tâm Đào tạo và Quản lý khoa học - Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương đã hỗ trợ, tạo mọi điều kiện thuận lợi, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập triển khai nghiên cứu trên thực địa, trong phòng thí nghiệm và hoàn thiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn lãnh đạo Sở Y tế, lãnh đạo và cán bộ Trung tâm kiểm soát bệnh tật, các bệnh viện thuộc 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai đã hỗ trợ, giúp đỡ tôi trong quá trình tổ chức triển khai, thu thập số liệu, luôn tạo điều kiện tốt nhất trong suốt quá trình nghiên cứu, hoàn thiện luận án.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Cục Khoa học công nghệ và Đào tạo, Bộ Y tế đã hỗ trợ tài chính cho nghiên cứu này.

Tôi xin được tri ân những tình cảm vô bờ của bà, bố mẹ, vợ con tôi và các bạn bè, đồng nghiệp đã giúp đỡ và động viên tôi trong những ngày tháng học tập và nghiên cứu.

Hà Nội, ngày tháng năm 2021

Nghiên cứu sinh

Vũ Vi Quốc

MỤC LỤC

| | Trang |
|---|-------------|
| DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT | vi |
| DANH MỤC BẢNG | viii |
| DANH MỤC HÌNH | ix |
| ĐẶT VẤN ĐỀ | 1 |
| CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN | 3 |
| 1.1. Một số điểm đại cương về <i>Viêm não vi rút</i> | 3 |
| 1.1.1. <i>Khái niệm hội chứng Viêm não cấp và Viêm não vi rút</i> | 3 |
| 1.1.2. <i>Một số loại Viêm não vi rút thường gặp</i> | 3 |
| 1.1.3. <i>Nguồn truyền nhiễm với các tác nhân truyền qua véc tơ</i> | 4 |
| 1.1.4. <i>Phương thức lây truyền</i> | 4 |
| 1.1.5. <i>Tính cảm nhiễm</i> | 4 |
| 1.1.6. <i>Đặc điểm lâm sàng của Viêm não vi rút</i> | 4 |
| 1.2. Thực trạng Viêm não vi rút trên thế giới và tại Việt Nam | 6 |
| 1.2.1. <i>Thực trạng hội chứng viêm não cấp và Viêm não vi rút trên thế giới</i> | 6 |
| 1.2.2. <i>Thực trạng hội chứng viêm não cấp và Viêm não vi rút tại Việt Nam</i> | 16 |
| 1.3. Tác nhân gây Viêm não vi rút | 22 |
| 1.3.1. <i>Vi rút arbo gây Viêm não vi rút</i> | 23 |
| 1.3.2. <i>Vi rút đường ruột gây Viêm não vi rút</i> | 25 |
| 1.3.3. <i>Vi rút Herpes gây Viêm não vi rút</i> | 28 |
| 1.4. Véc tơ muỗi truyền bệnh Viêm não vi rút và Viêm não Nhật Bản | 33 |
| 1.4.1. <i>Muỗi véc tơ truyền Viêm não vi rút</i> | 33 |
| 1.4.2. <i>Muỗi véc tơ truyền bệnh Viêm não Nhật Bản</i> | 34 |
| 1.5. Gánh nặng kinh tế và chi phí điều trị của bệnh Viêm não vi rút | 36 |
| 1.5.1. <i>Gánh nặng của bệnh Viêm não vi rút</i> | 36 |
| 1.5.2. <i>Chi phí điều trị bệnh tật</i> | 38 |
| 1.6. Giới thiệu địa điểm nghiên cứu | 41 |
| 1.6.1. <i>Tỉnh Sơn La</i> | 41 |
| 1.6.2. <i>Tỉnh Điện Biên</i> | 42 |
| 1.6.3. <i>Tỉnh Lào Cai</i> | 43 |
| CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU | 44 |
| 2.1. Mục tiêu 1: Mô tả thực trạng của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018 | 44 |
| 2.1.1. <i>Đối tượng nghiên cứu</i> | 44 |
| 2.1.2. <i>Địa điểm và thời gian nghiên cứu</i> | 44 |

| | |
|--|----|
| 2.1.3. <i>Thiết kế nghiên cứu</i> | 45 |
| 2.1.4. <i>Cỡ mẫu</i> | 45 |
| 2.1.5. <i>Phương pháp và công cụ thu thập thông tin</i> | 45 |
| 2.1.6. <i>Các biến số và chỉ số nghiên cứu</i> | 46 |
| 2.2. Mục tiêu 2: Xác định một số tác nhân vi rút gây viêm não và sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018. | 47 |
| 2.2.1. <i>Xác định một số tác nhân vi rút gây viêm não</i> | 47 |
| 2.2.1.1. <i>Đối tượng nghiên cứu</i> | 47 |
| 2.2.1.2. <i>Địa điểm và thời gian nghiên cứu</i> | 47 |
| 2.2.1.3. <i>Thiết kế nghiên cứu</i> | 47 |
| 2.2.1.4. <i>Cỡ mẫu</i> | 47 |
| 2.2.1.5. <i>Phương pháp và công cụ thu thập thông tin</i> | 47 |
| 2.2.1.6. <i>Tóm tắt các quy trình xét nghiệm</i> | 48 |
| 2.2.1.7. <i>Các biến số và chỉ số nghiên cứu</i> | 63 |
| 2.2.2. <i>Xác định sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại khu vực nghiên cứu</i> | 63 |
| 2.2.2.1. <i>Đối tượng nghiên cứu</i> | 63 |
| 2.2.2.2. <i>Địa điểm và thời gian nghiên cứu</i> | 63 |
| 2.2.2.3. <i>Thiết kế nghiên cứu</i> | 64 |
| 2.2.2.4. <i>Cỡ mẫu</i> | 64 |
| 2.2.1.5. <i>Phương pháp và công cụ thu thập thông tin</i> | 64 |
| 2.2.2.6. <i>Các biến số và chỉ số nghiên cứu</i> | 65 |
| 2.3. Mục tiêu 3: Xác định chi phí điều trị trực tiếp cho người bệnh Viêm não vi rút tại các cơ sở y tế ở 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018 | 66 |
| 2.3.1. <i>Đối tượng nghiên cứu</i> | 66 |
| 2.3.2. <i>Địa điểm và thời gian nghiên cứu</i> | 66 |
| 2.3.3. <i>Thiết kế nghiên cứu</i> | 67 |
| 2.3.4. <i>Cỡ mẫu</i> | 67 |
| 2.3.5. <i>Phương pháp và công cụ thu thập thông tin</i> | 67 |
| 2.3.6. <i>Nội dung và phương pháp phân tích chi phí</i> | 67 |
| 2.3.7. <i>Các biến số và chỉ số nghiên cứu</i> | 68 |
| 2.4. <i>Xử lý số liệu</i> | 68 |
| 2.5. <i>Sai số và cách hạn chế sai số</i> | 69 |
| 2.6. <i>Đạo đức nghiên cứu</i> | 69 |

| | |
|---|------------|
| CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU | 70 |
| 3.1. Thực trạng của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018 | 70 |
| 3.1.1. Phân bố bệnh Viêm não vi rút theo địa dư | 70 |
| 3.1.2. Phân bố bệnh Viêm não vi rút theo thời gian | 73 |
| 3.1.3. Phân bố bệnh Viêm não vi rút theo giới tính | 76 |
| 3.1.4. Phân bố bệnh Viêm não vi rút theo nhóm tuổi | 77 |
| 3.1.5. Phân bố ca bệnh Viêm não vi rút theo nghề nghiệp | 78 |
| 3.1.6. Phân bố ca bệnh Viêm não vi rút theo trình độ học vấn | 79 |
| 3.1.7. Phân bố ca bệnh Viêm não vi rút theo dân tộc | 81 |
| 3.1.8. Một số đặc điểm dịch tễ của các ca bệnh tử vong do Viêm não vi rút | 82 |
| 3.2. Một số tác nhân vi rút gây viêm não và sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018 | 84 |
| 3.2.1. Một số tác nhân vi rút gây viêm não tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018 | 84 |
| 3.2.2. Sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại khu vực nghiên cứu | 93 |
| 3.3. Chi phí điều trị trực tiếp liên quan đến y tế của người bệnh Viêm não vi rút điều trị tại các cơ sở y tế ở 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018 | 102 |
| 3.3.1. Chi phí trực tiếp cho điều trị Viêm não vi rút | 105 |
| 3.3.2. Một số yếu tố ảnh hưởng đến chi phí điều trị trực tiếp cho y tế của người bệnh Viêm não vi rút | 107 |
| CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN | 109 |
| 4.1. Thực trạng của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018 | 109 |
| 4.1.1. Tỷ lệ mắc VNVR ở Tây Bắc, Việt Nam, 2017 - 2018 | 110 |
| 4.1.2. Diễn biến bệnh Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc, Việt Nam, 2017 – 2018 theo thời gian | 112 |
| 4.1.3. Phân bố ca bệnh Viêm não vi rút theo một số yếu tố dịch tễ (tuổi, giới tính, nghề nghiệp, dân tộc, trình độ học vấn) | 124 |
| 4.2. Một số tác nhân vi rút gây viêm não và muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017-2018 | 117 |
| 4.2.1. Một số tác nhân vi rút gây viêm não tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017-2018 | 117 |

| | |
|---|------------|
| <i>4.2.2. Sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại khu vực nghiên cứu</i> | 127 |
| <i>4.2.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của muỗi véc tơ</i> | 133 |
| 4.3. Chi phí trực tiếp cho y tế của người bệnh Viêm não vi rút tại các cơ sở y tế ở 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018 | 135 |
| <i>4.3.1 Chi phí trực tiếp cho y tế của người bệnh Viêm não vi rút</i> | 135 |
| <i>4.3.2 Các yếu tố ảnh hưởng đến chi phí điều trị trực tiếp cho y tế của người bệnh Viêm não vi rút</i> | 137 |
| KẾT LUẬN | 138 |
| KIẾN NGHỊ | 140 |
| DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ | |
| CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN | |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO | |
| PHỤ LỤC | |

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

| | | |
|---------|---|--------------------------------------|
| ARN | Axist ribonucleic | |
| CI | Khoảng tin cậy | Confidence Interval |
| Cx | Culex | |
| CSMĐ | Chỉ số mật độ | |
| DCCN | Dụng cụ chứa nước | |
| EBV | Vi rút Epstein Barr (vi rút Herpes 4) | Epstein Barr Virus |
| ELISA | Kỹ thuật miễn dịch gắn men | Enzyme-linked Immunosorbent Assay |
| hCMV | Vi rút Cytomegalo | Human Cytomegalovirus |
| HCVNC | Hội chứng Viêm não cấp | |
| HSV | Vi rút Herpes Simplex | Herpes Simplex Virus |
| NPEV | Các vi rút đường ruột không phải polio | Non-Polio Enterovirus |
| PCR | Phản ứng khuếch đại chuỗi polymerase | Polymerase Chain Reaction |
| PTN | Phòng thí nghiệm | |
| PV | Phỏng vấn | |
| SL | Số lượng | |
| RdRP | ARN polymease phụ thuộc ARN | RNR dependent RNR polymerase |
| TB | Trung bình | |
| TCM | Tay chân miệng | |
| TTYTDP | Trung tâm Y tế dự phòng | |
| VNNB | Viêm não Nhật Bản | Japanese Encephalitis |
| VNVR | Viêm não vi rút | |
| VRĐR | Vi rút đường ruột | |
| VSDTTU' | Vệ sinh dịch tễ Trung ương | |

DANH MỤC BẢNG

| | Trang | |
|------------|---|-----|
| Bảng 1.1 | Phân bố ca bệnh hội chứng não cấp do VNNB và không do VNNB tại Dibrugarh, Ấn Độ, 2015 – 2016 | 16 |
| Bảng 1.2. | Các tác nhân phổ biến gây viêm não do vi rút | 23 |
| Bảng 2.1. | Các loại mẫu bệnh phẩm, thời gian và số lượng, loại xét nghiệm phát hiện tác nhân gây bệnh | 73 |
| Bảng 3.1. | Tỷ lệ chết/mắc do VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017-2018 | 91 |
| Bảng 3.2. | Phân bố các ca tử vong do VNVR theo các tác nhân gây bệnh tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 | 92 |
| Bảng 3.3. | Tỷ lệ chết/mắc do VNVR theo giới tính tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 | 92 |
| Bảng 3.4. | Phân bố các mẫu bệnh phẩm thu thập được theo loại bệnh phẩm | 93 |
| Bảng 3.5. | Kết quả xét nghiệm tác nhân vi rút ở người bệnh VNVR | 94 |
| Bảng 3.6. | Kết quả xét nghiệm tác nhân vi rút ở người bệnh nghiên cứu tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai | 95 |
| Bảng 3.7. | Phân bố các loại tác nhân phát hiện được trong các mẫu dương tính | 96 |
| Bảng 3.8 | Phân bố các loại tác nhân vi rút phát hiện được trong các mẫu dương tính tại tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018 | 97 |
| Bảng 3.9. | Phân bố tác nhân ở các mẫu dịch não tủy có xét nghiệm dương tính | 98 |
| Bảng 3.10. | Phân bố tác nhân ở các mẫu huyết thanh có xét nghiệm dương tính | 98 |
| Bảng 3.11. | Phân bố tác nhân ở các mẫu phân có xét nghiệm dương tính | 99 |
| Bảng 3.12. | Các loài muỗi thu thập được tại các điểm nghiên cứu | 103 |
| Bảng 3.13. | Chỉ số mật độ các loài muỗi Culex thu thập trên thực địa, 2018 | 108 |
| Bảng 3.14. | Phân bố bọ gậy của muỗi Culex theo thủy vực thu thập trên thực địa, 2018 | 109 |
| Bảng 3.15. | Một số yếu tố liên quan đến số lượng muỗi Culex thu thập trên thực địa, 2018 | 110 |
| Bảng 3.16. | Yếu tố liên quan đến số lượng bọ gậy thu thập được tại ruộng lúa nước, 2018 | 111 |
| Bảng 3.17 | Thông tin chung của đối tượng nghiên cứu | 112 |
| Bảng 3.18. | Thông tin về tình trạng bệnh của đối tượng nghiên cứu | 113 |
| Bảng 3.19. | Số ngày điều trị trung bình theo nơi điều trị | 113 |
| Bảng 3.20. | Chi phí điều trị theo tuyến điều trị | 114 |
| Bảng 3.21. | Chi phí trực tiếp cho điều trị VNVR theo các hạng mục y tế | 114 |
| Bảng 3.22. | Chi phí điều trị cho người bệnh VNVR tại bệnh viện tỉnh | 115 |
| Bảng 3.23. | Chi phí trực tiếp điều trị theo một số yếu tố nhân khẩu học | 116 |
| Bảng 3.24. | Chi phí trực tiếp cho điều trị theo thời gian điều trị | 116 |
| Bảng 3.25. | Chi phí trực tiếp cho điều trị theo tác nhân | 117 |

DANH MỤC HÌNH

| | Trang | |
|------------|--|----|
| Hình 1.1 | Phân bố ca mắc viêm não tại Mỹ từ năm 2000 – 2010 theo một số yếu tố dịch tễ | 10 |
| Hình 1.2. | Phân bố ca bệnh viêm màng não do vi rút đường ruột tại Sơn Đông, Trung Quốc từ năm 2006 – 2012 theo tháng và theo tít huyết thanh vi rút phân lập được | 13 |
| Hình 1.3. | Bản đồ phân bố các khu vực nguy cơ bệnh VNNB trên thế giới | 14 |
| Hình 1.4. | Trung bình số ca bệnh VNNB và số lượng muỗi véc tơ truyền bệnh VNNB theo tháng tại Đài Loan năm 2005 – 2012 | 15 |
| Hình 1.5. | Tình hình mắc VNVR tại Việt Nam và khu vực miền Bắc, 2007 – 2016 | 18 |
| Hình 1.6. | Tình hình tử vong do VNVR tại Việt Nam và khu vực miền Bắc, 2007 – 2016 | 18 |
| Hình 1.7. | Tỷ lệ mắc VNVR trên 100.000 dân trong giai đoạn 10 năm 2005 – 2014 của Việt Nam, miền Bắc và tỉnh Sơn La | 18 |
| Hình 1.8. | Tỷ lệ mắc hội chứng não cấp trung bình theo tỉnh/thành phố tại Việt Nam, 1998 – 2007 | 19 |
| Hình 1.9. | Tỷ lệ mắc VNVR trên 100.000 dân ở miền Bắc Việt Nam năm 2016 | 20 |
| Hình 1.10 | Phân bố ca bệnh hội chứng não cấp theo tháng và theo khu vực, Việt Nam, 1998 – 2007 | 20 |
| Hình 1.11. | Phân bố ca mắc VNVR tại Bắc Giang theo nhóm tuổi, 2008-2016 | 21 |
| Hình 1.12. | Phân loại tác nhân gây viêm não/viêm màng não do vi rút theo nhóm tuổi | 22 |
| Hình 1.13. | Vi rút Viêm não Nhật Bản. Cấu trúc vi rút Viêm não Nhật Bản, tổ chức bộ gen, cấu trúc bao ngoài | 26 |
| Hình 1.14. | Cấu trúc vi rút đường ruột | 28 |
| Hình 3.1. | Phân bố ca bệnh và tử vong do VNVR theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 | 79 |
| Hình 3.2. | Phân bố tỷ lệ mắc bệnh VNVR trung bình trên 100.000 dân tại tỉnh Sơn La theo huyện, 2017 – 2018 | 80 |
| Hình 3.3. | Phân bố tỷ lệ mắc bệnh VNVR trung bình trên 100.000 dân tại tỉnh Điện Biên theo huyện, 2017 – 2018 | 81 |
| Hình 3.4. | Phân bố tỷ lệ mắc bệnh VNVR trung bình trên 100.000 dân tại tỉnh Lào Cai theo huyện, 2017 – 2018 | 82 |
| Hình 3.5. | Phân bố ca bệnh VNVR trung bình theo tháng tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 | 83 |
| Hình 3.6. | Phân bố ca bệnh VNVR theo mùa tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 | 83 |
| Hình 3.7. | Phân bố ca bệnh VNVR trung bình theo tháng tại tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017 – 2018 | 84 |

| | | |
|------------|---|-----|
| Hình 3.8. | Phân bố ca bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc theo giới tính, 2017 – 2018 | 85 |
| Hình 3.9. | Phân bố ca bệnh VNVR ở Tây Bắc theo tỉnh và theo giới tính, 2017 – 2018 | 85 |
| Hình 3.10. | Phân bố ca bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc theo nhóm tuổi, 2017 – 2018 | 86 |
| Hình 3.11. | Phân bố ca bệnh VNVR theo nhóm tuổi tại tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017 – 2018 | 87 |
| Hình 3.12. | Phân bố ca bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc theo nghề nghiệp, 2017 – 2018 | 88 |
| Hình 3.13. | Phân bố ca bệnh VNVR tại Sơn La, Điện Biên và Lào Cai theo nghề nghiệp, 2017 – 2018 | 88 |
| Hình 3.14. | Phân bố ca bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc theo trình độ học vấn, 2017 – 2018 | 89 |
| Hình 3.15. | Phân bố ca bệnh VNVR tại Sơn La, Điện Biên và Lào Cai theo trình độ học vấn, 2017 – 2018 | 90 |
| Hình 3.16. | Phân bố ca bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc theo dân tộc, 2017 – 2018 | 90 |
| Hình 3.17. | Phân bố ca bệnh VNVR tại Sơn La, Điện Biên và Lào Cai theo dân tộc, 2017 – 2018 | 91 |
| Hình 3.18. | Phân bố ca tử vong do VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc theo nhóm tuổi, 2017 – 2018 | 93 |
| Hình 3.19. | Kết quả xét nghiệm tác nhân vi rút ở người bệnh nghiên cứu | 94 |
| Hình 3.20. | Tỷ lệ dương tính với các tác nhân VNVR tại tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017 – 2018 | 95 |
| Hình 3.21. | Phân bố tỷ lệ dương tính theo tháng, 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 | 100 |
| Hình 3.22. | Phân bố tỷ lệ dương tính theo nhóm tuổi, 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 | 100 |
| Hình 3.23. | Phân bố tỷ lệ dương tính theo nhóm tuổi và tác nhân gây bệnh | 101 |
| Hình 3.24. | Tiền sử tiêm chủng của các ca dương tính với VNNB | 102 |
| Hình 3.25. | Tỷ lệ muỗi thuộc giống <i>Culex</i> (Cx.) tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2018 | 104 |
| Hình 3.26. | Phân bố số lượng các loài muỗi <i>Culex</i> thu thập được tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2018 | 105 |
| Hình 3.27. | Phân bố số lượng muỗi <i>Cx. tritaeniorhynchus</i> theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2018 | 106 |
| Hình 3.28. | Phân bố số lượng muỗi <i>Cx. vishnui</i> theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2018 | 106 |
| Hình 3.29. | Phân bố số lượng muỗi <i>Cx. quinquefasciatus</i> theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2018 | 107 |
| Hình 3.30. | Phân bố số lượng muỗi <i>Cx. fuscocephalus</i> theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2018 | 107 |
| Hình 4.1. | Tính chất mùa của các ca nhập viện do VNVR theo tháng (A) và theo mùa (B) | 122 |

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm não vi rút (VNVR) là một bệnh lý nhiễm vi rút cấp tính xảy ra ở tổ chức nhu mô não, do nhiều loại vi rút có ái lực với tế bào thần kinh gây ra. VNVR đã và đang là vấn đề y tế công cộng lớn trên thế giới, do tỷ lệ tử vong cao và di chứng thần kinh lâu dài. Tỷ lệ mắc VNVR hàng năm trên toàn thế giới dao động từ 3,5 – 7,4 ca trên 100.000 dân, trong đó trẻ nhỏ chiếm tỷ lệ cao hơn, dao động từ 15 - 22 ca trên 100.000 trẻ nhỏ [78].

Cho đến nay, tác nhân gây viêm não phổ biến nhất xác định được là vi rút, chiếm khoảng 70% tổng số tác nhân chẩn đoán được [138]. Ở các khu vực khác nhau trên thế giới sự phân bố vi rút gây viêm não là khác nhau tùy thuộc vào đặc điểm địa lý và khí hậu. Nghiên cứu của Solomon và cộng sự năm 2007 đã thống kê một số tác nhân vi rút gây viêm não đặc trưng cho các lục địa, trong đó: khu vực châu Á là vi rút Viêm não Nhật Bản (VNNB), vi rút Tây sông Nin, vi rút Nipah; khu vực châu Âu và châu Mỹ lưu hành một số loại vi rút gây viêm não phổ biến như vi rút do ve truyền, vi rút Tây sông Nin, vi rút Toscana, vi rút dại, vi rút Dengue, vi rút St. Louis, vi rút Rocio; trong khi đó ở châu Phi thường gặp là vi rút Tây sông Nin, vi rút dại, vi rút sốt thung lũng Rift, vi rút sốt xuất huyết Công-gô, vi rút Dengue, vi rút Chikungunya, ... [7] [121]. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra một tỷ lệ không nhỏ các ca mắc viêm não được phát hiện do vi rút Herpes, vi rút đường ruột (VRĐR) hay vi rút Dengue [138] [42] [97]. Ở châu Á, vi rút VNNB là nguyên nhân hàng đầu gây VNVR với số mắc hàng năm ước tính khoảng 67.900 ca, trong đó, tỷ lệ tử vong chiếm khoảng 20 – 30%, di chứng thần kinh xuất hiện ở khoảng 30 – 50% số ca sống sót [121].

Tại Việt Nam, VNVR là bệnh lưu hành, nằm trong hệ thống giám sát bệnh truyền nhiễm theo quy định của Bộ Y tế. Bệnh được ghi nhận tại hầu hết các tỉnh thành trên toàn quốc, trong đó phổ biến nhất ở miền Bắc. Trong khoảng 10 năm trở lại đây, số mắc VNVR trên toàn quốc dao động từ 1.000 – 2.000 ca/năm. Theo kết quả giám sát bệnh VNVR của hệ thống giám sát thường xuyên, số mắc VNVR ở khu vực miền Bắc thường tập trung cao ở một số tỉnh miền núi phía Bắc, đặc biệt cao tại

3 tỉnh vùng Tây Bắc bao gồm Sơn La, Điện Biên và Lào Cai [4]. Khu vực này có dân số khoảng 2,5 triệu người, diện tích trải rộng và có đường biên giới giáp với Lào và Trung Quốc. Người dân chủ yếu là đồng bào dân tộc thiểu số bao gồm Thái, H'Mông, Tày, Nùng. Liên tục trong khoảng 5 năm trở lại đây, khu vực Tây Bắc luôn là điểm nóng về VNVR. Trong năm 2014, tại tỉnh Sơn La ghi nhận vụ dịch VNVR quy mô lớn kéo dài từ tháng 6 đến tháng 9 với 164 ca mắc, trong đó 21 ca tử vong [10]. Tại Điện Biên và Lào Cai trong 5 năm qua cũng có hàng trăm ca mắc VNVR, hàng chục ca tử vong. Chỉ riêng 6 tháng đầu năm 2016, tỉnh Điện Biên đã ghi nhận dịch VNVR với 54 ca mắc tại 10/10 huyện/thị. Mặc dù là một dịch bệnh nổi trội tại khu vực này trong nhiều năm qua nhưng cho đến nay chưa có nghiên cứu nào đầy đủ để trả lời những câu hỏi về đặc điểm dịch tễ, căn nguyên, véc tơ truyền bệnh cũng như gánh nặng chi phí, v.v..., mặc dù đây là điều hết sức cần thiết để giúp cho các nhà quản lý, các nhà chuyên môn lập kế hoạch cũng như đề ra chiến lược phòng chống dịch bệnh hiệu quả.

Chính vì những lý do trên, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu: “Thực trạng, căn nguyên Viêm não vi rút và chi phí điều trị trực tiếp cho người bệnh tại 3 tỉnh Tây Bắc Việt Nam, 2017-2018” với các mục tiêu:

- 1. Mô tả thực trạng của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018.**
- 2. Xác định một số tác nhân vi rút gây Viêm não và sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018.**
- 3. Xác định chi phí điều trị trực tiếp cho người bệnh Viêm não vi rút tại các cơ sở y tế ở 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018.**

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1. Một số điểm đại cương về Viêm não vi rút

1.1.1. Khái niệm hội chứng Viêm não cấp (HCVNC) và Viêm não vi rút (VNVR)

Hội chứng viêm não cấp (HCVNC) là một tình trạng tổn thương não cấp tính biểu hiện trên lâm sàng bằng rối loạn tri giác, co giật, có thể kèm theo dấu hiệu thần kinh khu trú hoặc lan tỏa, tăng bạch cầu đơn nhân trong dịch não tủy, kết quả chẩn đoán hình ảnh sọ não và điện não đồ bất thường [1], [122].

VNVR là một trong những nguyên nhân gây HCVNC. VNVR là một quá trình bệnh lý nhiễm vi rút cấp tính xảy ra ở tổ chức nhu mô não, do nhiều loại vi rút có ái lực với tế bào thần kinh gây ra. Đặc điểm lâm sàng đa dạng, nhưng chủ yếu biểu hiện là hội chứng não cấp gây rối loạn ý thức với nhiều mức độ khác nhau. Thuật ngữ “Viêm não do vi rút” xuất phát từ gốc từ tiếng Hy Lạp “enkephalos” thêm hậu tố “-itis” có nghĩa là não bị viêm.

1.1.2. Một số loại Viêm não vi rút thường gặp

1.1.2.1. Viêm não vi rút do muỗi truyền

Viêm não vi rút do muỗi truyền là loại viêm não phổ biến nhất, gồm các nhóm bệnh: Viêm não Nhật Bản, Viêm não ngựa miền Tây, Viêm não ngựa miền Đông, Viêm não St. Louis, Viêm não thung lũng Murray, Viêm não Lacrosse, Viêm não California, Viêm não Rocio, Viêm não Jamestown Canyon, Viêm não thỏ giấy tuyết.

1.1.2.2. Viêm não vi rút do ve truyền

VNVR do ve truyền gồm các nhóm bệnh: Viêm não Viễn Đông do ve truyền, Viêm não Trung Âu do ve truyền, bệnh Louping, Viêm não do vi rút Powassan. VNVR do ve truyền có đặc điểm lâm sàng tương đối giống với VNVR do muỗi truyền, ngoại trừ phân típ Viễn Đông thường kết hợp với động kinh cục bộ, liệt mềm và các di chứng khác.

1.1.2.3. Viêm não vi rút do các tác nhân vi rút phổ biến khác

Ngoài các loại VNVR do muỗi truyền và do ve truyền, y văn thế giới ghi nhận hàng trăm tác nhân vi rút gây viêm não khác, trong đó phổ biến là: HSV, CMV, Dengue, các VRĐR, vi rút thuỷ đậu, ...

1.1.3. Nguồn truyền nhiễm với các tác nhân truyền qua véc tơ [7]

- Ổ chứa: ổ chứa thiên nhiên là súc vật hoang dã như các loài động vật có xương sống, chim, dơi, gặm nhấm, bò sát, lưỡng cư, hoặc các loài muỗi, ve truyền bệnh đặc hiệu.
- Thời gian ủ bệnh: 5 – 15 ngày.
- Thời kỳ lây truyền: Bệnh lây truyền qua véc tơ là muỗi hoặc ve truyền bệnh. Ở người thời kỳ khởi phát cũng không phát hiện vi rút trong máu. Thời gian nhiễm vi rút huyết trong các loài chim khoảng 2 – 5 ngày, trong súc vật khoảng 7 – 10 ngày. Muỗi và ve nhiễm vi rút sau khi hút máu có thể truyền bệnh suốt đời và có thể truyền sang thế hệ sau qua trứng [7].

1.1.4. Phương thức lây truyền [7]

VNVR có thể được lây truyền qua tiếp xúc, qua đường tiêu hoá hoặc qua véc tơ truyền bệnh là muỗi hoặc ve [7].

1.1.5. Tính cảm nhiễm [7]

Trẻ em thường có tính cảm nhiễm cao với VNVR do vi rút đường ruột. Trẻ em và người già thường có tính cảm nhiễm cao với bệnh VNVR do muỗi truyền. Tất cả mọi người đều cảm nhiễm với VNVR do ve truyền. Sau khi mắc bệnh, kể cả những ca nhiễm vi rút thể ẩn đều được miễn dịch [7].

1.1.6. Đặc điểm lâm sàng của Viêm não vi rút [14] [3]

1.1.6.1. Đặc điểm lâm sàng

Các dấu hiệu và triệu chứng của bệnh có mức độ nghiêm trọng và tiến triển khác nhau tùy thuộc loại tác nhân gây bệnh và thể trạng người bệnh. Phần lớn bị nhiễm vi rút không có biểu hiện triệu chứng. Ca mắc bệnh nhẹ thường có sốt, đau đầu hoặc biểu hiện viêm màng não vô khuẩn. Ca nặng có biểu hiện cấp tính lúc khởi phát, sốt cao, đau đầu, có dấu hiệu màng não, sững sờ, mất định hướng, hôn mê, run, đôi khi co giật (nhất là ở trẻ nhỏ) và liệt cứng. Tỷ lệ tử vong từ 0,3 – 60%, trong đó tỷ lệ tử

vong cao nhất do mắc VNNB, Viêm não thung lũng Murray và Viêm não tủy ngựa miền Đông. Tỷ lệ mắc bệnh để lại di chứng thần kinh xảy ra với tần số khác nhau tùy thuộc vào tuổi của người bệnh, và tác nhân gây bệnh, trong đó VNNB, Viêm não thung lũng Murray và Viêm não tủy ngựa miền Đông thường có di chứng nặng nề hơn. Bệnh VNVR Trung Âu do ve truyền có thể bệnh nhẹ, nhưng tiến triển kéo dài (khoảng 3 tuần). Bệnh VNVR Viễn Đông do ve truyền, còn gọi là Viêm não xuân-hạ Nga, thường có cơn động kinh cục bộ, liệt mềm và vài di chứng khác [14] [3].

Biểu hiện lâm sàng/cận lâm sàng của ca bệnh VNVR gồm:

- Sốt cao 38 – 40⁰C; đau đầu, buồn nôn, nôn; co giật, cổ cứng;
- Rối loạn ý thức, li bì, trạng thái sững sờ, mất định hướng, có cử động bất thường (run giật, múa vờn), hôn mê, nói chậm hoặc không nói được, liệt cứng;
- Có ứ đọng nhiều đờm dãi;
- Xét nghiệm máu thường thấy bạch cầu không tăng hoặc tăng ít;
- Dịch não tủy trong, tăng tế bào bạch cầu và chủ yếu là tế bào lympho.

1.1.6.2. Cận lâm sàng [14], [3]

- Xét nghiệm máu:
 - Công thức máu: Số lượng bạch cầu tăng nhẹ hoặc bình thường;
 - Điện giải đồ, đường huyết thường trong giới hạn bình thường.
- Xét nghiệm dịch não tủy:
 - Tế bào trong dịch não tủy: Hầu hết (85% ca) có tăng nhẹ tế bào (trên 5 đến vài chục tế bào/mm³), chủ yếu là tế bào lympho. Tuy nhiên ở lần chọc ống sống thất lưng đầu tiên (giai đoạn sớm) hoặc ở người bệnh suy giảm miễn dịch, ..., không thấy tăng tế bào trong dịch não tủy lớn hơn 500/mm³, số ít có thể >1000/mm³ (hay gặp trong Viêm não tủy ngựa miền Đông, Viêm não California, Viêm não do vi rút quai bị, ...);
 - Một số VNVR không tăng tế bào lympho, thường gặp do EBV, hCMV và HSV;
 - Một số viêm não có tăng bạch cầu neutro trong dịch não tủy (hay gặp trong Viêm não tủy ngựa miền Đông, Viêm não do vi rút ECHO 9, một

số vi rút đường ruột khác). Tuy nhiên những trường hợp xét nghiệm dịch não tủy có bạch cầu neutro tăng chậm (sau >48 giờ), cần phân biệt với các căn nguyên do vi khuẩn, hoặc các căn nguyên khác;

- Một số trường hợp (khoảng 20% ca VNVR do HSV, CTFV, Viêm não California) trong dịch não tủy có thể có hồng cầu >500 tế bào/mm³.
- Xét nghiệm sinh hoá trong dịch não tủy:
 - Protein: bình thường hoặc tăng nhẹ dưới 1g/l;
 - Glucose: đa số bình thường, đôi khi tăng nhẹ.
- Xét nghiệm tìm căn nguyên trong dịch não tủy:
 - Kỹ thuật PCR (khuyếch đại a xít nhân vi rút) trong dịch não tủy: hiện nay đang được sử dụng rộng rãi và được xem như một kỹ thuật cơ bản trong chẩn đoán VNVR ở các nước tiên tiến, đặc biệt VNVR do hCMV, EBV, vi rút thủy đậu và vi rút đường ruột;
 - Tìm kháng nguyên trong dịch não tủy: những ca nghi ngờ VNVR do HSV có thể tìm kháng nguyên glycoprotein của HSV trong dịch não tủy. Nhưng xét nghiệm này cần phải làm sớm trong tuần đầu của bệnh;
 - Phát hiện kháng thể đặc hiệu kháng vi rút trong dịch não tủy và trong huyết thanh.

1.2. Thực trạng Viêm não vi rút trên thế giới và tại Việt Nam

1.2.1. Thực trạng hội chứng viêm não cấp và Viêm não vi rút trên thế giới

HCVNC thường gây ra bệnh cảnh lâm sàng nặng nề, thời gian nằm viện dài, phải sử dụng nhiều kỹ thuật chẩn đoán và biện pháp điều trị tốn kém nhưng lại để lại nhiều di chứng nặng nề, thậm chí tử vong. Hầu hết các ca bệnh HCVNC không xác định được căn nguyên trực tiếp từ tổ chức não mà phải xác định tác nhân gây bệnh thông qua xét nghiệm huyết thanh, miễn dịch, sinh học phân tử... từ dịch não tủy, máu hoặc các bệnh phẩm lấy từ các vị trí ngoài hệ thống thần kinh trung ương. Trong số tác nhân gây HCVNC, chỉ có khoảng 10% căn nguyên có thuốc điều trị đặc hiệu cho các tác nhân như vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng (sốt rét thể não) và một số loại vi rút

gây viêm não như Herpes simplex, Varicella zoster; còn phần lớn các ca HCVNC (90%) không có điều trị đặc hiệu [118, 144].

Trong một nghiên cứu phân tích của Jmor và cộng sự năm 2008 tập hợp từ 87 nghiên cứu về HCVNC trên toàn thế giới cho thấy tỷ lệ mắc ở các nước phương Tây những năm gần đây là 7,4/100.000 dân, trong đó ở trẻ em là 10,5 đến 13,8/100.000 trẻ; tỷ lệ này trên người trưởng thành là khoảng 2,2/100.000. Điều đáng lưu ý là tỷ lệ mắc HCVNC ở các nước phương Tây và các nước vùng nhiệt đới khác nhau không đáng kể, thậm chí ở các nước phương Tây còn cao hơn. Tỷ lệ mắc HCVNC ở các nước vùng nhiệt đới là 6,34/100.000 dân [77]. Nghiên cứu tại Anh giai đoạn 1989-1998 cho thấy tỷ lệ mắc HCVNC là 1,5/100000, trong đó 40% xác định được nguyên nhân, còn lại 60% là Viêm não vi rút không xác định. Những năm gần đây việc tăng cường sử dụng phương pháp chẩn đoán bằng sinh học phân tử, căn nguyên gây HCVNC xác định bởi phòng xét nghiệm đã tăng lên 7 lần [81].

Mặc dù là căn nguyên chính gây HCVNC nhưng những hiểu biết và nghiên cứu về các tác nhân vi rút gây HCNVC còn chưa được đầy đủ. Vai trò gây bệnh của các căn nguyên vi rút gây HCVNC rất khác nhau tùy theo lứa tuổi, mùa cũng như vị trí địa lý. Có căn nguyên mang tính toàn cầu như viêm não cấp do vi rút nhóm Herpes; nhưng cũng có những căn nguyên mang tính khu vực, điển hình là viêm não cấp do các vi rút nhóm Arbo [45], [73], [118], [120], [141].

Tại các nước châu Âu và châu Mỹ, nhờ sự phát triển của các kỹ thuật chẩn đoán, tỷ lệ xác định được căn nguyên vi rút lên tới 50%. Tại Anh, số lượng ca bệnh viêm não cấp do vi rút tăng trên tất cả các nhóm tuổi - từ tỷ lệ mắc 0,6/100.000 (năm 2004) tăng lên 3,9/100.000 (năm 2013). Độ tuổi trung bình là 30,6, với 1/3 ca là trẻ em. Vi rút đường ruột (VRĐR) là căn nguyên chính chiếm 52%, sau đó là vi rút Herpes simplex (HSV) 29% và varicella zoster 13% [81]. Tại Phần Lan căn nguyên chính gây HCVNC ở người lớn là VRĐR (26%), HSV típ 2 (17%) và 9% là vi rút arbo [94]. Tại Thụy Điển, tỷ lệ HCVNC do HSV típ 1 là 0,22/100.000 dân, tỷ lệ tử vong 14%, di chứng thần kinh tâm thần là 22% [43]. Tại Mỹ, giai đoạn 1950-1981, tỷ lệ mắc HCVNC hàng năm là 7,4/100.000 dân, và giảm dần theo thời gian. Trong nghiên cứu

của Trevio cho thấy tỷ lệ mắc trên 100.000 dân từ năm 1988 - 1997 là 4,3, căn nguyên chính là vi rút arbo [69]. Trong nghiên cứu dịch tễ học HCVNC giai đoạn 2011-2014 ở Hoa Kỳ, tỷ lệ căn nguyên viêm não ở người lớn có sự thay đổi, tỷ lệ do vi rút arbo chỉ chiếm 1,1%, căn nguyên do VRĐR chiếm 51,6% và HSV là 8,3% [66].

Ở châu Á, HCVNC khá phổ biến, trong đó căn nguyên do vi rút VNNB được xác định là tác nhân hàng đầu gây HCVNC cho trẻ em trong khu vực Châu Á Thái Bình Dương bao gồm Trung Quốc, Nhật Bản, Triều Tiên, vùng viễn đông nước Nga, Đài Loan, Ấn Độ, Pakistan, Nepal, Papua New Guinea, Bangladesh, Úc ... và toàn bộ các nước Đông Nam Á với dân số khoảng 2,7 tỷ người, trong đó trẻ em dưới 15 tuổi có nguy cơ mắc bệnh cao hơn [50], [72], [88], [133], [143]. Tại Ấn Độ, HCVNC có tỷ lệ mắc và tử vong rất cao, nguyên nhân được xác định chủ yếu là vi rút và vi khuẩn, trong đó vi rút VNNB là một trong những nguyên nhân chính gây HCVNC [72], [73]. Nghiên cứu tại Malaysia giai đoạn 1997-2006 cho thấy trong số ca mắc bệnh VNNB, 92% là trẻ em từ 12 tuổi trở xuống, 8% người bệnh là trẻ lớn và người lớn. Nhưng trong những năm 1998-1999, vi rút Nipah, một loại vi rút lây truyền trực tiếp qua đường hô hấp được xác định là tác nhân vi rút mới gây HCVNC chủ yếu cho người lớn ở nước này [50], [106]. Tại Philippines, vi rút VNNB được xác định là nguyên nhân hàng đầu gây bệnh viêm não ở người, chiếm 15% số ca mắc HCVNC. Tuy chưa có công bố về các tác nhân vi rút khác gây HCVNC ở Philippines, nhưng bằng chứng về sự lưu hành của vi rút Banna trong quần thể muối cho thấy vi rút Banna có thể cũng là nguyên nhân gây HCVNC ở Philippines [79], [139].

VNVR là một vấn đề sức khỏe cộng đồng nghiêm trọng trên toàn thế giới, với tỷ lệ tử vong cao và di chứng thần kinh nặng nề. Các bệnh VNVR do muỗi truyền được phân bố rộng rãi trên thế giới. Mỗi bệnh được định hình theo vùng địa lý đặc trưng, có liên quan đến đặc điểm sinh học và sinh thái học của muỗi véc tơ truyền bệnh. Bệnh VNVR ngựa miền Đông lưu hành ở phía Đông và Bắc của Trung Mỹ, vùng giáp ranh Canada, rải rác ở khu vực Trung và Nam Mỹ và các đảo vùng Caribe. Bệnh VNVR ngựa miền Tây lưu hành tại miền Tây, Trung Hoa Kỳ, Canada và một phần của Nam Mỹ. Bệnh VNNB lưu hành tại các đảo phía tây Thái Bình Dương từ

Nhật Bản đến Philippines, ở nhiều khu vực thuộc Đông Nam Á trong đó có Việt Nam, Thái Lan và Đông Á từ Triều Tiên đến Indonesia, Ấn Độ. Bệnh Viêm não Kunjin, bệnh Viêm não thung lũng Murray lưu hành một phần lãnh thổ Úc và Papua New Guinea. Bệnh Viêm não Saint Louis lưu hành ở Hoa Kỳ, Canada, Trung Quốc và Liên bang Nga.

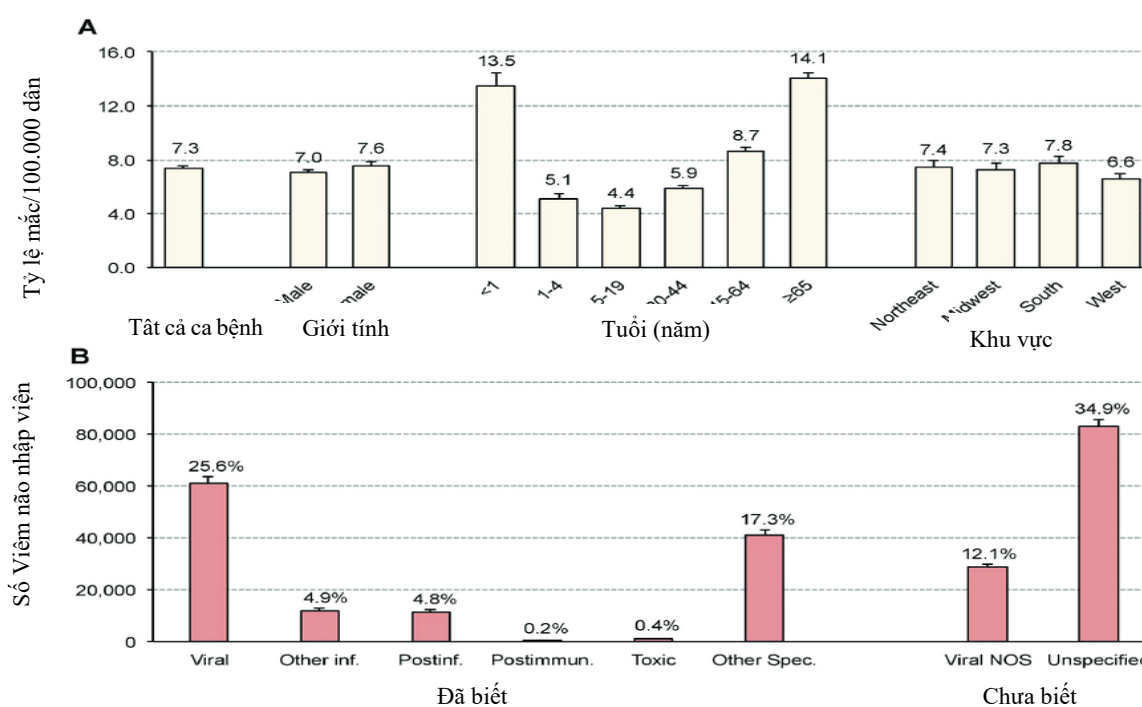
Tỷ lệ ước tính của VNVR được chẩn đoán trên lâm sàng dao động từ 3,5 – 7,4 ca/100.000 dân/năm, số liệu ước tính này dựa trên các giám sát thụ động, do đó đánh giá thấp tỷ lệ mắc bệnh thực tế [78]. Tỷ lệ mắc bệnh ở trẻ em dưới 1 tuổi khoảng 22,5 ca/100.000 trẻ/năm và trẻ dưới 10 tuổi là 15,2 ca/100.000 trẻ/năm. Fidan Jmor và cộng sự năm 2008 tổng hợp dữ liệu từ 87 nghiên cứu trên thế giới cho thấy tỷ lệ mắc hội chứng não cấp ở trẻ em dao động từ 10,5 – 13,8 ca/100.000 trẻ. Trong khi đó một số nghiên cứu cho thấy tỷ lệ mắc ở tất cả các nhóm tuổi dao động từ 6,34 ca – 7,4 ca/100.000 dân tùy theo khu vực nhiệt đới hay ôn đới [77]. Nghiên cứu hội chứng não cấp ở Hoa Kỳ, ước tính có khoảng 19.000 ca nhập viện và 1.400 ca tử vong mỗi năm, trong số mắc trên có tới 59,5% không xác định được căn nguyên. Trong số xác định được căn nguyên, căn nguyên vi rút chiếm tỷ lệ cao nhất 38,2% [87].

Bệnh Viêm não do vi rút đã được ghi nhận từ hàng trăm năm nay, có trên 100 loại tác nhân vi rút gây viêm não khác nhau, trong đó VNNB là một trong những nguyên nhân quan trọng nhất gây viêm não ở trẻ em. Vi rút VNNB lưu hành chủ yếu ở châu Á, trong khi đó, VNVR do ve truyền lại là một trong những nguyên nhân quan trọng gây viêm não tại các quốc gia Đông, Trung và Bắc Âu, phía bắc Trung Quốc, Mông Cổ và Liên bang Nga. Theo ước tính của Tổ chức Y tế thế giới, hàng năm ghi nhận từ 10.000 đến 12.000 ca VNVR do ve truyền [142].

Nghiên cứu năm 2017 và 2019 tại Mỹ cho thấy vi rút đường ruột là căn nguyên phổ biến nhất gây viêm màng não/viêm não, có khoảng 58% ca bệnh viêm màng não/viêm não ở trẻ em và trẻ sơ sinh và 52% ca bệnh người lớn được chẩn đoán là do VRĐR [51].

Tại Mỹ, viêm não cấp do vi rút HSV ở người lớn chiếm tỷ lệ khoảng 1 ca/1 triệu dân/năm, mỗi năm Mỹ ghi nhận khoảng 2.000 ca trong đó 90% do HSV-1, 10% do

HSV-2 [84]. Viêm não do vi rút Herpes chủ yếu có căn nguyên là HSV-1 (chiếm trên 90%), và thường dẫn tới tử vong (trên 70%) nếu không được điều trị, và chỉ có khoảng 3% số ca hồi phục mà không có di chứng [85].



Hình 1.1. Phân bố ca mắc viêm não tại Mỹ từ năm 2000 – 2010 theo một số yếu tố dịch tễ (giới tính, tuổi, địa dư, tác nhân gây bệnh) [85]

Từ năm 2000 – 2010, tại Mỹ ghi nhận tỷ lệ mắc viêm não nhập viện trung bình $7,3 \pm 0,2$ ca trên 100.000 dân (95% CI: 7,1–7,6). Tỷ lệ mắc ở nữ cao hơn ($7,6 \pm 0,2/100,000$ dân). Về nhóm tuổi, trẻ dưới 1 tuổi và người già trên 65 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất, lần lượt là $13,5 \pm 0,9$ và $14,1 \pm 0,4$ trên 100.000 dân. Các ca không xác định được căn nguyên chiếm khoảng 50% tổng số ca viêm não nhập viện. Trong số xác định được căn nguyên, tác nhân vi rút chiếm tỷ lệ cao nhất (48,2%), tiếp theo là các nguyên nhân đặc biệt khác (32,5%), bao gồm cả các bệnh tự miễn. Tác nhân phổ biến nhất là HSV, Toxoplasma, và vi rút Tây sông Nin. Số ngày nằm viện trung bình là 11,2 ngày, tỷ lệ tử vong là 5,6% [60].

Một nghiên cứu năm 2001 tại Phần Lan sử dụng phương pháp xét nghiệm PCR tìm căn nguyên gây bệnh trên mẫu dịch não tủy của 3.231 ca bệnh có tổn thương thần kinh trung ương gồm viêm não, viêm màng não và viêm tủy xương cho thấy 46%

dương tính với vi rút, trong đó vi rút thủy đậu chiếm tỷ lệ cao nhất tới 29%, vi rút Herpes và vi rút đường ruột chiếm 11%, vi rút cúm A chiếm 7%, bên cạnh đó cũng còn một phần rất lớn các ca bệnh không tìm được căn nguyên gây viêm não (chiếm 64%) [101].

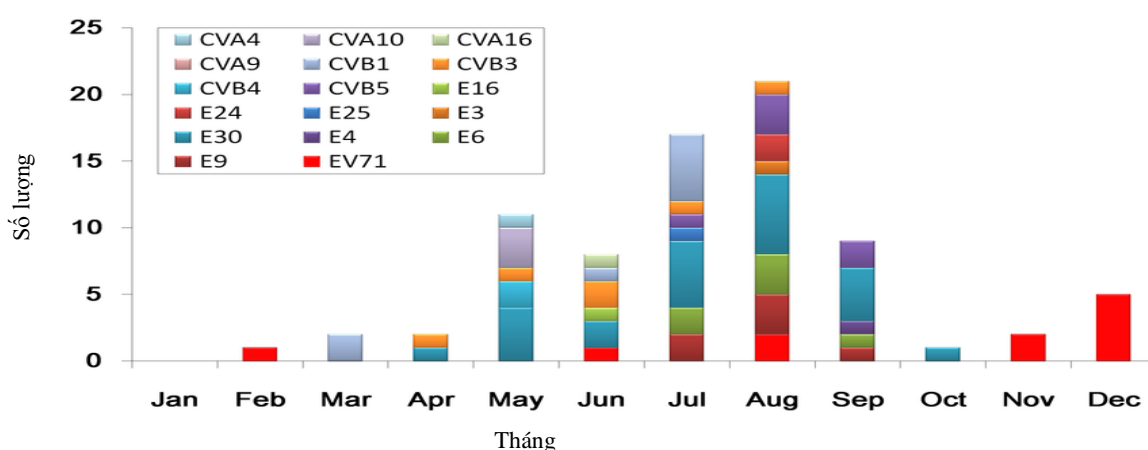
Kết quả nghiên cứu viêm não trên trẻ dưới 16 tuổi tại Phần Lan công bố năm 1997 cho thấy, tuổi trung bình của trẻ mắc viêm não là 5,6 tuổi, tỷ lệ nữ : nam là 1 : 0,9; riêng nhóm 7 – 9 tuổi có tỷ lệ nữ : nam là 1 : 1,4. Về căn nguyên, vi rút đường ruột ghi nhận nhiều ở nhóm 1 – 11 tháng tuổi, trung bình là 3,7 tuổi; trong khi đó vi rút thủy đậu phát hiện hầu hết ở nhóm 4 – 6 tuổi, vi rút hô hấp ghi nhận ở nhóm 1 tháng – 6 tuổi, cả 2 đều có tuổi mắc trung bình là 5,5 tuổi [89].

Nghiên cứu của Koskiniemi và cộng sự trong giai đoạn 1995 – 1996 cũng tại Phần Lan thu thập số liệu của hơn 3.000 người mắc viêm não nghi do vi rút. Kết quả cho thấy, tỷ lệ mắc VNVR lâm sàng dao động từ 25 – 100 ca/100.000 dân/năm. Tỷ lệ dương tính với các tác nhân vi rút là 20,4%. Các tác nhân vi rút tìm thấy trong dịch não tủy gồm: vi rút thủy đậu, HSV, VRĐR, vi rút cúm A, vi rút Herpes – 6 (HHV-6), vi rút Adeno, vi rút do ve truyền và 8 tác nhân vi rút khác với số lượng ít. Các ca mắc tập trung cao nhất ở nhóm trẻ dưới 10 tuổi [101].

Theo kết quả nghiên cứu tổng quan của Rashmi Kumar và cộng sự năm 2020, các yếu tố như tuổi, địa lý, tính chất mùa, khí hậu và tình trạng miễn dịch của vật chủ ảnh hưởng đến đặc điểm dịch tễ của bệnh viêm não. Các vi rút arbo hoặc vi rút do côn trùng truyền khác (arthropod-borne viruses) có vòng đời phát triển theo véc tơ là côn trùng hay động vật có xương sống, thường lây nhiễm cho vật chủ cuối cùng là con người. Các viêm não do vi rút arbo có phân bố địa lý phụ thuộc vào hoạt động của véc tơ truyền bệnh. Ví dụ, viêm não do vi rút arbo ở Mỹ thường do vi rút Western equine, Eastern equine, Californian, và St. Louis gây ra. Vi rút Venezuelan thường gặp ở Nam Mỹ, và VNNB thường ở châu Á. Các tác nhân này thường gây ra các vụ dịch. Đôi khi, một tác nhân hiếm gặp xuất hiện tại một khu vực cũng có thể bùng phát thành dịch lớn. Viêm não do HSV thường gây ra các ca bệnh lẻ tẻ ở các nước phương Tây và thường không có tính chất mùa hay sự khác biệt về giới tính rõ ràng. Vi rút

Tây sông Nin được phát hiện lần đầu tại Mỹ từ những năm 90 của thế kỷ trước và đã thành dịch lưu hành tại nước này. Thủy đậu, quai bị và đại gàn như đã được loại trừ ở nhiều nước phát triển do hiệu quả của chương trình tiêm chủng [92].

Nhóm các VRĐR phổ biến như EV71, Coxsackie A16, A6 được biết đến là căn nguyên chính của bệnh tay chân miệng. Tuy nhiên, y văn thế giới đã ghi nhận nhóm căn nguyên này là một trong những căn nguyên chính gây viêm màng não cấp, viêm não và bại liệt. Giai đoạn từ năm 1997 – 2003, khu vực Đông Á và Đông Nam Á đã trải qua nhiều vụ dịch viêm não do VRĐR EV71 với mức độ từ nhẹ đến nặng.



Hình 1.2. Phân bố ca bệnh viêm màng não do vi rút đường ruột tại Sơn Đông, Trung Quốc, 2006 – 2012 theo tháng và theo tít vi rút phân lập được [131]

Từ năm 2006 – 2012, Zexin Tao và cộng sự đã nghiên cứu 437 ca viêm màng não tại tỉnh Sơn Đông, Trung Quốc, kết quả cho thấy tuổi của ca bệnh dao động từ 4 tháng – 12 tuổi, trong đó 83,8% là trẻ dưới 5 tuổi. Tỷ lệ nam: nữ là 2,83 : 1. Trong số 437 ca bệnh trên, phát hiện 84 ca dương tính với vi rút đường ruột với 17 tít huyết thanh phân lập được. Các ca bệnh viêm màng não do VRĐR tập trung cao nhất vào giai đoạn tháng 7 – 8 trong năm [131].

Vi rút VNNB là một trong những căn nguyên chính gây viêm não, đặc biệt là tại các nước khu vực châu Á. Bệnh VNNB đã được phát hiện từ thế kỷ XIX với ca bệnh đầu tiên được ghi nhận năm 1871 tại Nhật Bản. Cuối thế kỷ XIX liên tiếp xảy ra các vụ dịch ở vùng núi Nhật Bản vào mùa hè - thu với nhiều ca bệnh nặng và tỷ lệ tử vong tới 60%. Năm 1924, Nhật Bản ghi nhận vụ dịch viêm não với 6.125 ca mắc,

3.797 ca tử vong. Năm 1935, Nhật Bản lần đầu tiên phân lập được vi rút VNNB từ não người bệnh tử vong. Năm 1938, vi rút VNNB được phân lập trên muỗi *Culex* [135]. Thời kỳ chưa có vắc xin phòng VNNB, mỗi năm châu Á ghi nhận hàng chục nghìn ca mắc VNNB; riêng Trung Quốc từ năm 1965 – 1975 ghi nhận trên 1 triệu ca. Sau khi vắc xin phòng VNNB ra đời, cùng với sự tiên phong của các nước như Nhật Bản, Hàn Quốc, Chương trình tiêm chủng mở rộng vắc xin VNNB đã có nhiều thành tựu đáng kể, làm giảm số mắc VNNB trên toàn cầu cũng như ở châu Á. Mặc dù vậy, theo ước tính của Tổ chức Y tế thế giới, hiện nay VNNB là nguyên nhân gây ra khoảng 67.900 ca viêm não hàng năm tại các nước lưu hành dịch (tỷ lệ mắc khoảng 1,8 ca/100.000 dân/năm), trong đó 75% (51.000 ca) nằm trong độ tuổi 0 – 14 tuổi (tỷ lệ mắc khoảng 5,4 ca/100.000 dân/năm) [62].

Năm 2015, theo thống kê chưa đầy đủ từ các quốc gia lưu hành bệnh VNNB, Tổ chức Y tế thế giới ghi nhận 4.087 ca mắc VNNB từ 20 (83%) trên tổng số 24 quốc gia; trong đó 3.549 ca (87%) từ 4 quốc gia: Trung Quốc (624 ca), Ấn Độ (1.620 ca), Nepal (937 ca) và Việt Nam (368 ca), các quốc gia còn lại ghi nhận không quá 115 ca/năm. Kể từ năm 2012, chương trình giám sát và tiêm chủng phòng VNNB đã được mở rộng và phát triển mạnh. Số quốc gia có lưu hành VNNB triển khai giám sát bệnh VNNB đã tăng từ 75% năm 2012 lên 92% năm 2016 [67].

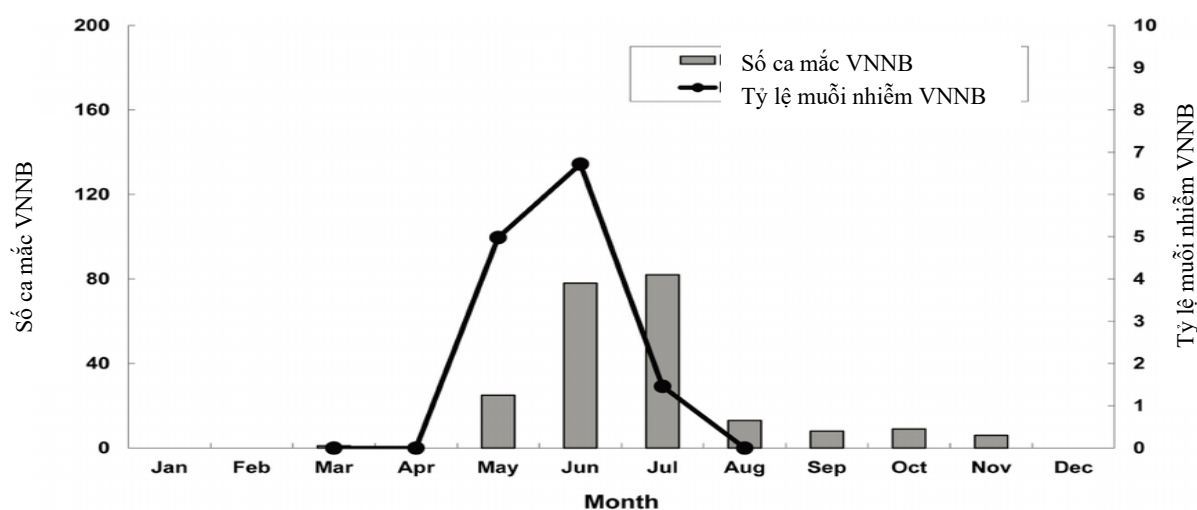
Viêm não Nhật Bản, những quốc gia và vùng nguy cơ



Hình 1.3. Bản đồ phân bố các khu vực nguy cơ bệnh VNNB trên thế giới [145]

VNNB là bệnh thường gặp ở trẻ nhỏ và người trẻ tuổi nhưng một số nhóm tuổi khác vẫn có nguy cơ mắc bệnh [93] [63] [102]. Ở miền Nam Thái Lan, tỷ lệ mắc VNNB ước tính khoảng 40 ca/100.000 dân ở nhóm tuổi 5 đến 25, tỷ lệ mắc giảm dần và gần như bằng 0 ở nhóm trên 35 tuổi. Tỷ lệ mắc thấp hơn ở nhóm trẻ nhỏ dưới 3 tuổi. Tại các vùng dịch mới xuất hiện, như Sri Lanka, Ấn Độ, và Nepal, người lớn cũng dễ mắc bệnh, đặc biệt các vụ dịch thường ghi nhận tại doanh trại quân đội hơn là trong các khu dân cư [67].

Nguy cơ mắc VNNB rất khác nhau tùy thuộc vào sinh thái và tính chất mùa của từng vùng địa lý. Về cơ bản, vi rút VNNB lây truyền mạnh ở vùng nông nghiệp/nông thôn, thường liên quan đến các yếu tố như trồng lúa nước, kênh rạch thủy lợi, tình trạng lũ lụt ngập úng, là những điều kiện thuận lợi để muỗi véc tơ truyền bệnh sinh sản và truyền bệnh cho vật chủ. Ở một số khu vực châu Á, những đặc điểm sinh thái này có thể xuất hiện ở gần hoặc ngay trong các đô thị. Tại những khu vực khí hậu ôn đới hoặc ôn đới một phần (ví dụ Trung Quốc, Nhật Bản, Nepal, miền Bắc Việt Nam, miền Bắc Ấn Độ, Hàn Quốc, và Đài Loan), vi rút VNNB có tính chất mùa rõ rệt, đỉnh dịch thường vào mùa hè hoặc mùa thu. Các tháng cao điểm của dịch hay độ dài ngắn của mùa dịch cũng khác nhau tùy thuộc vào vùng địa lý, vào khả năng dịch bùng phát lớn hay nhỏ. Ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, dịch VNNB có thể xuất hiện quanh năm, thường đỉnh dịch vào các tháng mùa mưa [68].



Hình 1.4. Trung bình số ca bệnh VNNB và số lượng muỗi véc tơ truyền bệnh VNNB theo tháng tại Đài Loan năm 2005 – 2012 [126]

Theo kết quả nghiên cứu của Chien-Ling Su và cộng sự từ năm 2005 – 2012 tại Đài Loan, muỗi véc tơ truyền bệnh VNNB thường bắt đầu xuất hiện từ tháng 5, đạt đỉnh về số lượng vào tháng 6 và giảm dần từ tháng 7. Theo đó, mùa của các ca bệnh VNNB cũng có diễn biến tương đồng. Mùa xuân và mùa hè là mùa dịch VNNB tại Đài Loan và đỉnh dịch thường rơi vào tháng 6 - 7 [126].

Ở những vùng có dịch VNNB lưu hành, bệnh chủ yếu ảnh hưởng đến trẻ em, với tỷ lệ lớn ca bệnh xảy ra ở trẻ em dưới 15 tuổi, hầu hết người lớn có khả năng miễn dịch bảo vệ sau khi tiếp xúc tự nhiên với vi rút. Tuy nhiên, ở những khu vực có chương trình tiêm chủng vắc xin phòng VNNB cho trẻ nhỏ, tỷ lệ mắc VNNB giảm xuống đáng kể, đồng thời tỷ lệ mắc ở người trưởng thành cao hơn. Hiện đã ghi nhận nhiều vụ dịch VNNB ở người lớn tuổi tại Nhật Bản, Trung Quốc và Ấn Độ. Các ca mắc VNNB liên quan đến du lịch có thể xảy ra ở mọi lứa tuổi [68].

Bảng 1.1. Phân bố ca bệnh hội chứng não cấp do VNNB và không do VNNB tại Dibrugarh, Ấn Độ, 2015 – 2016

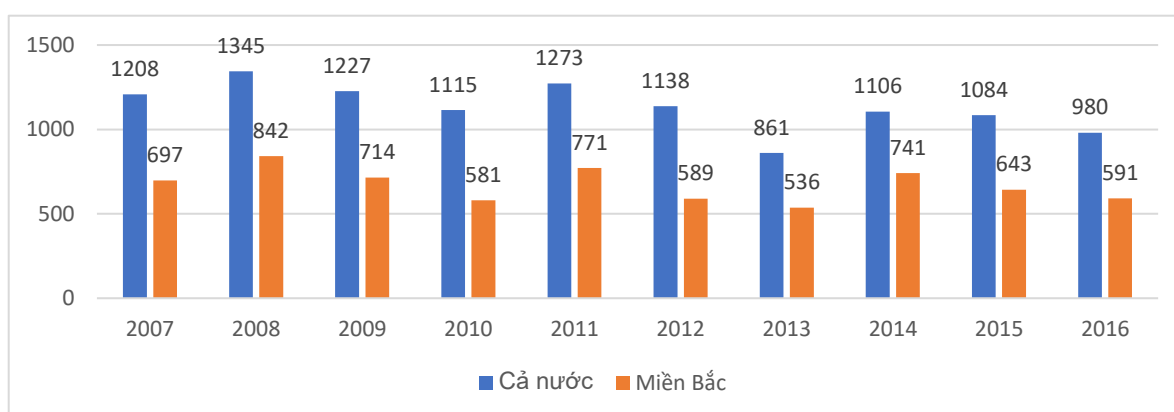
| Nhóm tuổi | Hội chứng não cấp không phải VNNB | | VNNB | | Tổng cộng | |
|------------------|-----------------------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| | Số lượng | Tỷ lệ % | Số lượng | Tỷ lệ % | Số lượng | Tỷ lệ % |
| Dưới 1 tuổi | 35 | 15,2 | 4 | 2,3 | 39 | 9,6 |
| Từ 1 – 5 tuổi | 91 | 39,4 | 50 | 28,4 | 141 | 34,6 |
| Trên 5 tuổi | 105 | 45,5 | 122 | 69,3 | 227 | 55,8 |
| Tổng cộng | 231 | 100 | 176 | 100 | 407 | 100 |

Năm 2015 – 2016, nhóm nghiên cứu tại trường Đại học Y Assam, Ấn Độ đã thu thập số liệu từ 407 ca bệnh hội chứng não cấp nhập viện, kết quả cho thấy tuổi trung bình của các ca mắc là $5,4 \pm 3,3$ tuổi (dao động từ 1 tháng – 12 tuổi). Số mắc tập trung nhiều ở nhóm 5 – 12 tuổi với 227 ca chiếm 55,8%, trong đó phát hiện 122 ca (54%) dương tính với VNNB [61].

1.2.2. Thực trạng hội chứng viêm não cấp và Viêm não vi rút tại Việt Nam

Tại Việt Nam, HCVNC được nghiên cứu từ thế kỷ trước, trong đó VNNB được biết từ năm 1952 theo công bố của hai tác giả người Pháp là Puyuelo H và Prévot M. Năm 1953, hai tác giả này đã có một báo cáo về 98 ca VNNB trong quân đội viễn chinh Pháp tại miền Bắc Việt Nam. Giám sát HCVNC nghi ngờ do vi rút là cơ sở để chẩn đoán/giám sát bệnh nhân VNNB, giám sát trong nhiều năm cho thấy trong các khoảng thời gian khác nhau, tỷ lệ mắc VNNB có sự thay đổi do tác động của vắc xin phòng bệnh. Cụ thể, tỷ lệ mắc VNNB hàng năm dao động trong khoảng 4,16-4,78/100.000 dân (1994-1996); 2,57-4,16/100.000 dân (1996-2000) và 2,75-2,82/100.000 dân (2001-2004) [2], [13],[146].

Căn nguyên gây HCVNC ở Việt Nam được xác định chủ yếu là do vi rút VNNB. Những năm gần đây, nhờ hiệu quả của Chương trình tiêm chủng mở rộng, bệnh Viêm não Nhật Bản đã giảm hơn, ít xảy ra dịch lớn, tuy nhiên vẫn còn là một trong những bệnh hay gặp trong nhóm bệnh nhiệt đới. Căn nguyên gây HCVNC cũng được xác định ngoài vi rút VNNB như HSV, EV nhờ áp dụng các kỹ thuật xét nghiệm sinh học phân tử [1], [12], [35], [129]. Tỷ lệ mắc bệnh ở trẻ trai cao hơn trẻ gái, bệnh gặp nhiều hơn vào mùa hè, chủ yếu vì tính chất theo mùa của VNNB [1].

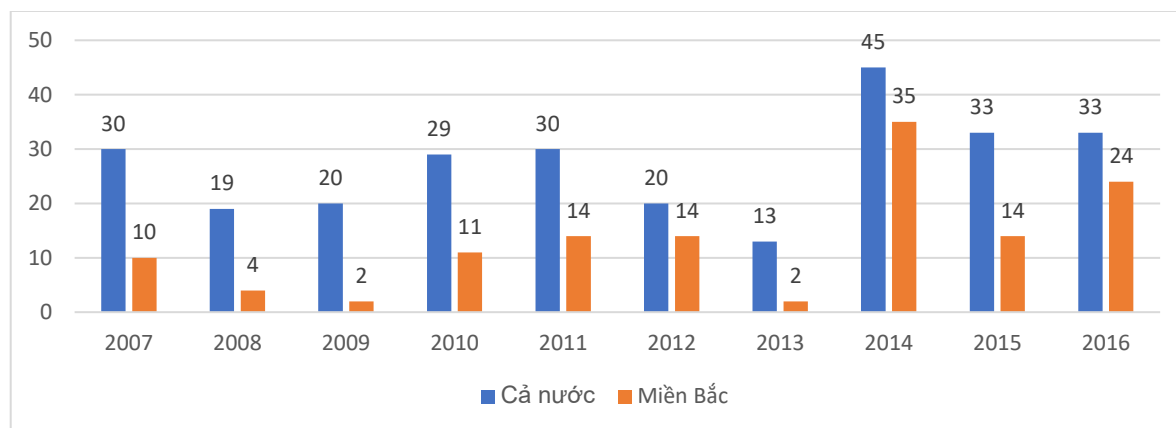


Hình 1.5. Tình hình mắc VNVR tại Việt Nam và miền Bắc, 2007 - 2016 [4]

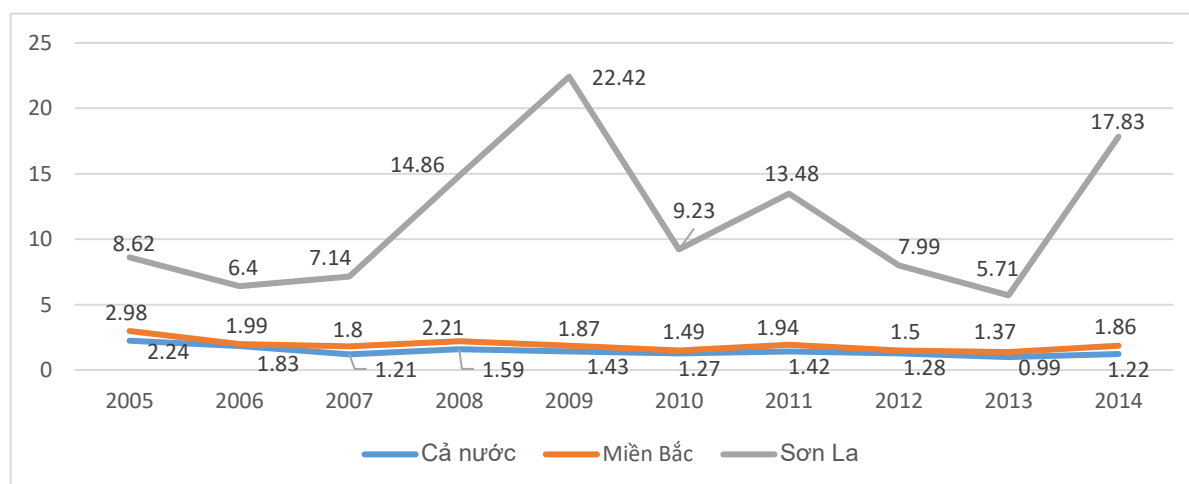
Đối với các nước đang phát triển, trong đó có Việt Nam, VNVR vẫn là một trong những gánh nặng bệnh tật, đóng góp tỷ lệ lớn trong mô hình bệnh tật chung.

Trong 10 năm từ 2007 – 2016, trung bình Việt Nam ghi nhận 1.133 ca VNVR, riêng miền Bắc trung bình là 671 ca chiếm 59% (hình 1.5). Số ca mắc có xu hướng

giảm nhẹ không đáng kể, tuy nhiên số ca tử vong do VNVR không những không giảm mà còn có dấu hiệu tăng, một trong các nguyên nhân có thể là do hệ thống báo cáo bệnh truyền nhiễm được ghi nhận đầy đủ hơn. Các ca tử vong ở Việt Nam do VNVR tập trung đa phần ở khu vực miền Bắc (hình 1.6).



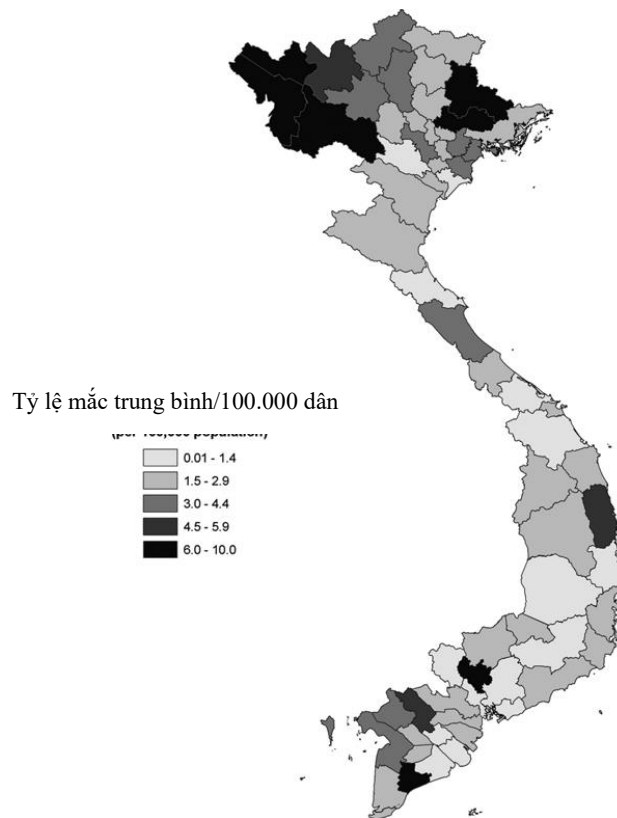
Hình 1.6. Tình hình tử vong do VNVR tại Việt Nam và miền Bắc, 2007-2016 [4]



Hình 1.7. Tỷ lệ mắc VNVR trên 100.000 dân trong giai đoạn 10 năm 2005 – 2014 của Việt Nam, miền Bắc và tỉnh Sơn La [4]

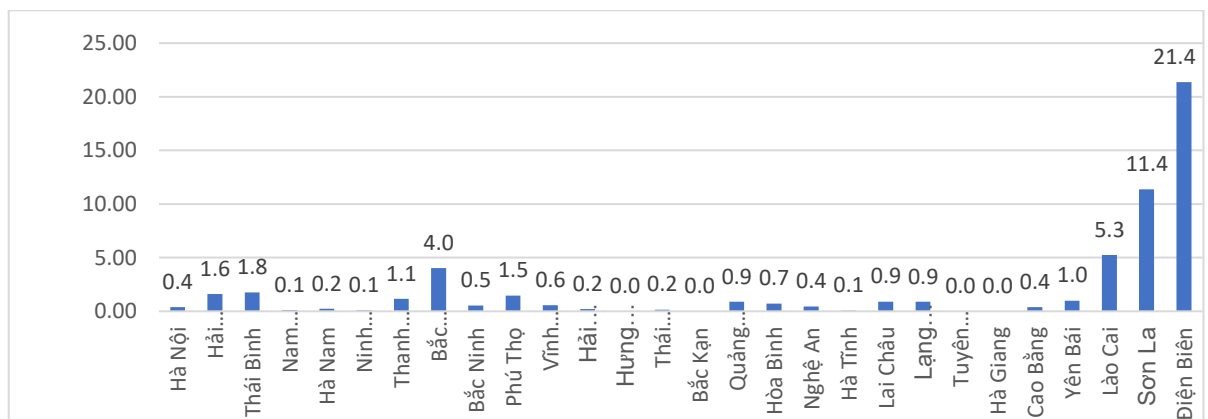
Năm 2014, tỷ lệ mắc và tử vong do VNVR tại Sơn La và Điện Biên cao nhất trong cả nước (hình 1.7), lần lượt là 17,13 ca và 18,74 ca trên 100.000 dân, tỷ lệ tử vong lần lượt là 1,79 ca và 0,56 ca trên 100.000 dân. Trong những năm trước đây, các nghiên cứu về hội chứng não cấp, VNVR ở miền Bắc Việt Nam phần nhiều tập trung ở đồng bằng sông Hồng, do khu vực này thường ghi nhận số ca mắc cao hơn, các vụ dịch xảy ra thường xuyên hơn [4]. Nhưng đến nay, có vẻ như bệnh đã có sự dịch chuyển dần từ khu vực đồng bằng đến khu vực miền núi Tây Bắc. Đây cũng là một

trong những câu hỏi cần được trả lời thông qua các nghiên cứu dịch tễ học.



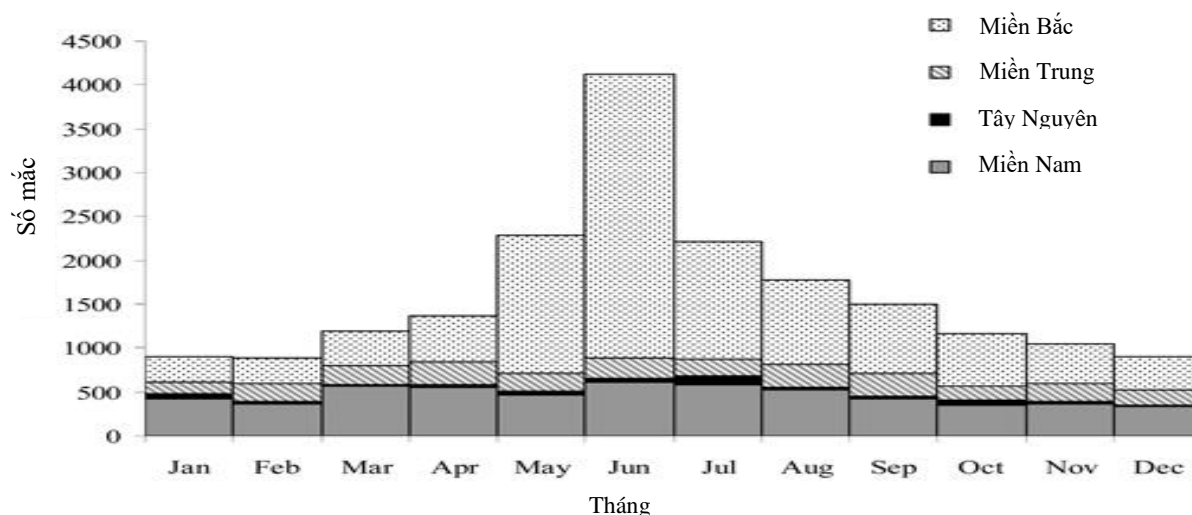
Hình 1.8. Tỷ lệ mắc hội chứng não cấp trung bình theo tỉnh/thành phố tại Việt Nam, 1998 - 2007 [109]

Nghiên cứu về tỷ lệ mắc hội chứng não cấp tại Việt Nam từ năm 1998 – 2007 của Nguyễn Thị Thu Yến và cộng sự cho thấy, các ca bệnh hội chứng não cấp phân bố rộng trên cả nước, số mắc cao ở một số tỉnh, thành phố ở vùng Tây Bắc, Đông Bắc (Lai Châu, Lào Cai, Sơn La, Bắc Giang, Lạng Sơn, hình 1.9) và một số tỉnh miền Trung và miền Nam (Bình Định, Bình Dương, Đông Tháp, Bạc Liêu).



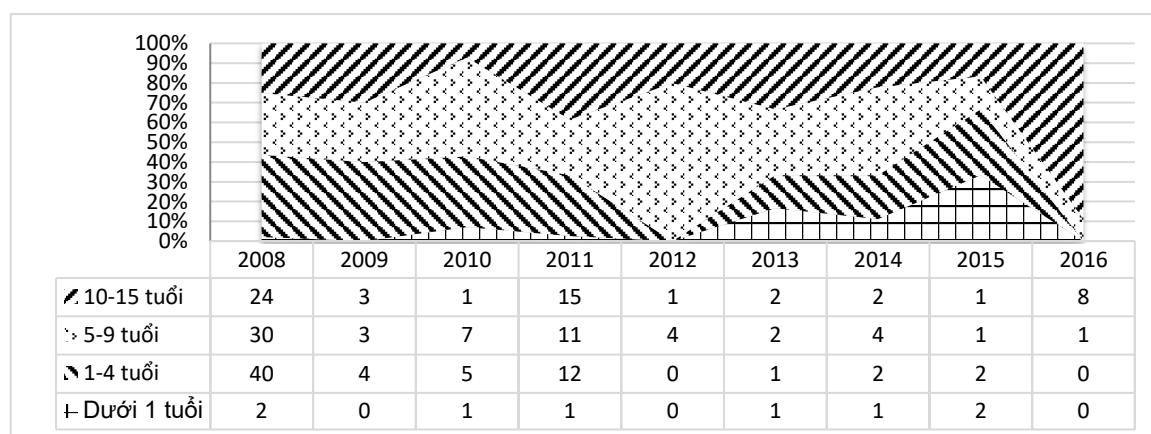
Hình 1.9. Tỷ lệ mắc VNVR/100.000 dân ở miền Bắc Việt Nam năm 2016 [9]

Trong khoảng 10 năm trở lại đây, số ca mắc VNVR thường ghi nhận cao tại các tỉnh thuộc khu vực miền núi phía Bắc như Lào Cai, Sơn La, Điện Biên. Số mắc trung bình trong 3 năm 2014 - 2016 tại 3 tỉnh này chiếm đến 46% tổng số mắc của khu vực miền Bắc.



Hình 1.10. Phân bố ca bệnh hội chứng não cấp theo tháng và theo khu vực, Việt Nam, 1998 – 2007 [109]

Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Yến và cộng sự về tình hình hội chứng não cấp tại Việt Nam cho thấy bệnh ghi nhận nhiều vào các tháng mùa hè, đặc biệt là tháng 6, với 73% ca trong giai đoạn tháng 5 – 9 hàng năm, số mắc tập trung cao và có tính mùa rõ rệt hơn ở khu vực miền Bắc, so với các khu vực còn lại trên cả nước [109].



Hình 1.11. Phân bố ca mắc VNVR tại Bắc Giang theo nhóm tuổi, 2008-2016 (n=194) [37]

Kết quả nghiên cứu tại Bắc Giang từ 2008 – 2016 cho thấy, số mắc VNVR xuất hiện rải rác trong năm nhưng bắt đầu có dấu hiệu tăng nhanh từ tháng 3 - 4 và đạt đỉnh tập trung vào các tháng 5, 6, 7 và sang đến tháng 8 số ca bệnh bắt đầu giảm. Riêng tháng 7 có số ca mắc VNVR rất cao, chiếm đến 42% tổng số ca mắc trong vòng 9 năm (2008 - 2016). Tương tự như vậy, số ca mắc VNNB cũng xuất hiện tập trung vào mùa hè vào các tháng 5, 6 và 7. Số mắc giảm đáng kể vào những tháng cuối năm, chỉ xuất hiện 1 đến 2 ca và có những tháng không xuất hiện ca nào. Về nhóm tuổi, nhóm 1- 4 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất, 34%, tiếp theo là nhóm 5 - 9 tuổi, 32%. Trẻ ở nhóm 10 - 15 tuổi có tỷ lệ mắc khá cao - 29%. Trẻ dưới 1 tuổi từ 2012 đến 2016 có chiều hướng tăng dần về số ca VNVR, còn trẻ từ 1 đến 4 tuổi lại có dấu hiệu giảm dần, cụ thể trong năm 2008 có 40 ca VNVR nhưng đến năm 2016 không có ca nào trong nhóm tuổi này. Sự khác biệt về tỷ lệ VNNB trong số các ca VNVR giữa các nhóm tuổi là có ý nghĩa thống kê với $P = 0,002$ [37].

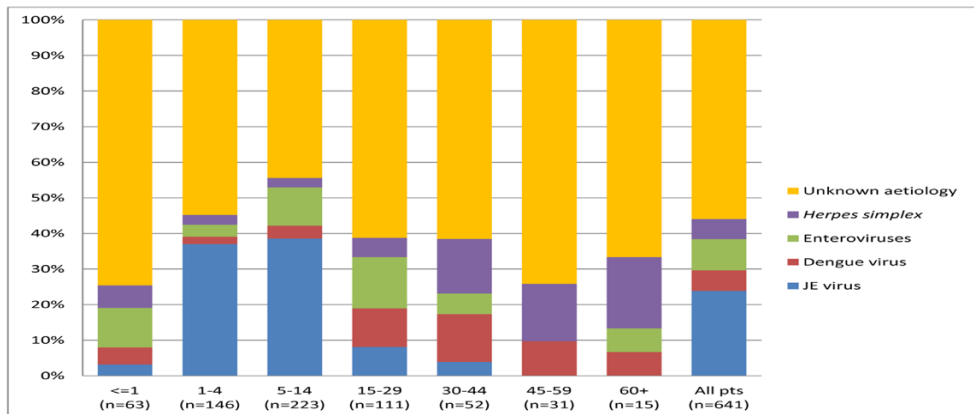
Kết quả nghiên cứu của Phan Thị Ngà và cộng sự cho thấy, trong 717 mẫu dịch não tủy của người mắc hội chứng não cấp tại 9 tỉnh ở Việt Nam giai đoạn 2002 – 2012 có tỷ lệ xác định dương tính là 13,63% – 35,83%. Các ca xác định dương tính được ghi nhận quanh năm, nhưng tập trung chủ yếu trong các tháng hè 5, 6 và 7 với tỷ lệ dương tính cao nhất là 34,78% trong tháng 6. Ca bệnh phân bố cao nhất ở nhóm ≥ 15 tuổi, chiếm 28,26%, thấp nhất ở nhóm dưới 1 tuổi, chiếm 5,98% [32].

Nghiên cứu 653 ca viêm não màng não điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương năm 2011 – 2014 cho thấy, nguyên nhân gây bệnh đứng đầu là vi rút VNNB: 33,20%; sau đó là phế cầu: 10,41%; Hib và N. meningitidis: 0,15% và 0,46%. Tỷ lệ điều trị khỏi hoàn toàn là 54,7%; để lại di chứng 19,9% và tỷ lệ tử vong 5,2% [22].

Trong đa phần các nghiên cứu trên thế giới cũng như tại Việt Nam, tỷ lệ mắc VNVR ở nam giới đều cao hơn nữ giới [38], [17], [135], [107].

Tại Việt Nam năm 2007 – 2010, VNNB là nguyên nhân của 33% ca viêm não/viêm màng não vi rút ở trẻ em. VNNB là nguyên nhân phổ biến gây viêm não ở nhóm trẻ 1 – 14 tuổi, nhưng lại hiếm gặp ở nhóm dưới 1 tuổi và trên 15 tuổi [107]. VNNB hiếm

khi xảy ra ở người trưởng thành tại các khu vực có dịch lưu hành do những người này đã trải qua thời gian dài phơi nhiễm với vi rút và có thể đã có miễn dịch [136].



Hình 1.12. Phân loại tác nhân gây viêm não/viêm màng não do vi rút theo nhóm tuổi [107]

Kết quả nghiên cứu tại 5 tỉnh miền Bắc Việt Nam năm 2004 – 2005 cho thấy, tỷ lệ dương tính với VNNB trong 421 ca hội chứng não cấp trung bình là 51%, trong đó tỉnh Thái Bình có tỷ lệ dương tính tới 71%. Trong 217 ca VNNB, 198 (91%) ca \leq 15 tuổi, 6 ca (3%) dưới 1 tuổi, 47 ca (22%) từ 1 – 5 tuổi, 68 ca (31%) từ 6 – 10 tuổi, và 77 ca (35%) từ 11–15 tuổi [109]. Nghiên cứu của trường đại học Oxford tại một số bệnh viện ở Việt Nam cho thấy vi rút Dengue, vi rút đường ruột và vi rút *Herpes simplex* là các tác nhân phổ biến gây viêm não ở người trưởng thành. Vi rút Dengue được phát hiện ở 39/641 ca nghi viêm não/viêm màng não do vi rút (6.1%), gồm 25 người trưởng thành và 14 trẻ em. Có 56% số ca bệnh không xác định được căn nguyên [107].

Ở Việt Nam, nhất là ở miền Bắc, bệnh VNNB thường xuất hiện tản phát hàng năm, có tính mùa bắt đầu từ tháng 4 đến tháng 10, tần số mắc cao nhất vào tháng 6. Năm 1985, nước ta ghi nhận vụ dịch VNNB rất lớn ở khu vực miền Bắc. Kết quả điều tra dịch tễ huyết thanh học trên quần thể lợn và người cho thấy vi rút VNNB phân bố rộng rãi ở mọi nơi, nhưng bệnh nghiêm trọng ở các tỉnh đồng bằng châu thổ sông Hồng và trung du bắc bộ với tỷ lệ mắc hàng năm dao động từ 5 – 7 ca/100.000 dân trong những năm 80 và đầu thập kỷ 90. Từ năm 1993, Việt Nam đã sản xuất được vắc xin phòng VNNB, đến năm 1997 vắc xin được đưa vào Chương trình tiêm chủng

mở rộng quốc gia, miễn phí cho trẻ từ 1 – 5 tuổi tại các huyện nguy cơ cao. Đến nay tỷ lệ mắc VNNB đã giảm đáng kể. Tuy nhiên, tại các khu vực miền núi phía Bắc, số mắc vẫn khá cao.

1.3. Tác nhân gây Viêm não vi rút

Bảng 1.2. Các tác nhân phổ biến gây Viêm não do vi rút [121]

| <i>Các nhóm tác nhân vi rút</i> | |
|--------------------------------------|--|
| Vi rút arbo | VNNB, Viêm não Saint Louis, Tây sông Nin, Viêm não tủy ngựa miền Đông, Viêm não tủy ngựa miền Tây, Viêm não do ve truyền |
| Vi rút đường ruột | Coxsackie, Echo, Enterovirus 70 và 71, Parecho, và vi rút bại liệt |
| Vi rút Herpes | HSV típ 1 và 2, thủy đậu, Epstein Barr, vi rút Cytomegalo (hCMV), vi rút Human Herpes típ 6 và 7 |
| Vi rút Paramyxo | Vi rút quai bị và vi rút sởi |
| Khác | Vi rút cúm, vi rút Adeno, vi rút Parvo, vi rút Lymphocytic choriomeningitis, vi rút Rubella |
| <i>Tác nhân gây bệnh theo địa dư</i> | |
| Châu Mỹ | Vi rút Tây sông Nin, La Crosse, St. Louis, Rocio, Viêm não Powassan, Venezuelan, Tủy ngựa miền Đông, Tủy ngựa miền Tây, sốt mò Colorado, vi rút Dengue, vi rút dại |
| Châu Âu, Trung Đông | Viêm não do ve, vi rút Tây sông Nin, Toscana, dại, sốt xuất huyết và vi rút Louping |
| Châu Phi | Vi rút Tây sông Nin, dại, Rift Valley, sốt xuất huyết Crimean-Congo, vi rút Dengue, vi rút Chikungunya |
| Châu Á | Vi rút VNNB, vi rút Tây sông Nin, vi rút Viêm não thung lũng Murray, Dengue, Nipah, Chikungunya, vi rút dại |
| Úc | Vi rút Viêm não thung lũng Murray, VNNB, Dengue, vi rút Kunjin |

Các căn nguyên gây HCVNC rất đa dạng như vi khuẩn, vi rút, nấm, ký sinh trùng, hóa chất, độc chất, rối loạn chuyển hóa, phản ứng tự miễn sau tiêm vắc xin... [1], [71], [105], [113]. Tuy nhiên, hơn 60% các ca HCVNC không xác định được căn nguyên gây bệnh [47], [69], [72], [86]. Tại Ấn Độ, chỉ có khoảng 20 - 30% số ca

HCVNC xác định được căn nguyên [63]. Trong các căn nguyên gây HCVNC, phần lớn được xác định là do vi rút và số loại tác nhân vi rút được phát hiện có liên quan đến HCVNC càng ngày càng tăng [88], [96], [118], [127].

Đến nay đã xác định được trên 100 loại vi rút có khả năng gây VNVR với phân bố và mức độ trầm trọng khác nhau, trong đó vi rút VNNB là một trong những nguyên nhân quan trọng nhất gây viêm não ở trẻ em.

Dưới đây là một số nhóm vi rút phổ biến gây viêm não:

1.3.1. Vi rút arbo gây Viêm não vi rút

Vi rút arbo (Arthropod borne virus) thuộc nhóm vi rút truyền bệnh do các loài chân đốt hút máu mang và lây truyền giữa các động vật có xương sống bao gồm cả người. Vi rút arbo nhân lên trong tế bào các loài chân đốt (muỗi, ve...) nhưng không gây bệnh cho chúng.

Hiện nay đã phát hiện hơn 400 loại vi rút thuộc nhóm Arbo, trong đó có khoảng 150 loại gây bệnh cho người và gia súc. Nguy hiểm nhất là các vi rút gây hội chứng viêm não và sốt xuất huyết, có khả năng gây tử vong cao và được liệt vào loại các vi rút nguy hiểm. Các vi rút arbo gây ra những bệnh hiểm nghèo, tỷ lệ tử vong cao (40 - 90% với thể điển hình), hoặc nếu còn sống sót thì thường để lại di chứng nặng nề như bại não, liệt...

Vi rút gây viêm não tuy không những có thể lây truyền qua muỗi mà còn có thể lây qua đường hô hấp. Thời gian ủ bệnh rất ngắn và tỷ lệ tử vong cao.

- Viêm não ngựa miền Đông (Eastern equine encephalitis): Như tên bệnh cho biết, viêm não này xuất hiện chủ yếu ở ngựa, ít gặp ở người và thường gặp ở khu vực miền Đông Hoa Kỳ. Bệnh có thể xảy ra quanh năm nhưng nhiều là vào mùa hè. Vi rút này thường hiện diện ở các loài chim sống trong các đầm nước ngọt. Viêm não thường nặng nề và gây tử vong. Bệnh thường xảy ra 10 ngày sau khi bị muỗi đốt.

- Viêm não ngựa miền Tây (Western equine encephalitis): Hầu hết các báo cáo về bệnh này xảy ra ở bình nguyên miền Tây Hoa Kỳ. Các loài chim sống trên các cánh đồng có hệ thống thủy lợi hoặc trên các trang trại thường nhiễm vi rút. Bệnh xảy ra chủ yếu ở ngựa, hiếm gặp ở người. Thường cao điểm vào tháng sáu và tháng bảy.

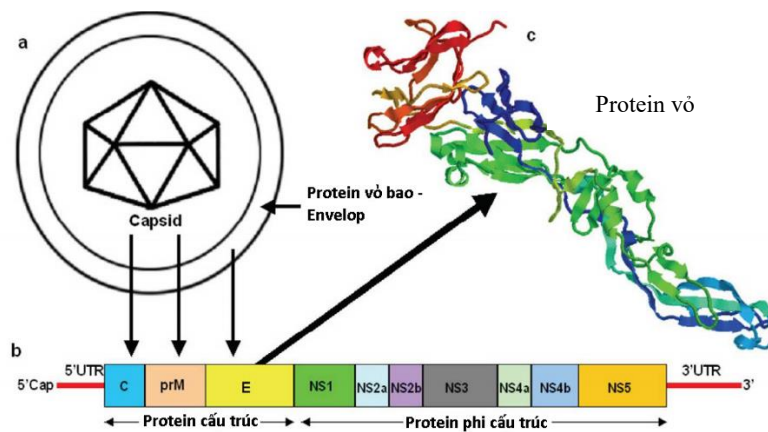
Bệnh nhẹ hơn viêm não ngựa miền Đông, tuy nhiên trẻ nhỏ mắc bệnh sẽ biểu hiện nặng nề.

- Viêm não St. Louis (St. Louis encephalitis): Bệnh này cũng từ chim lan sang muỗi- người. Người già mắc bệnh nặng hơn. Tỷ lệ tử vong khoảng từ 2 đến 20%.

- Viêm não La Crosse (La Crosse encephalitis): La Crosse là nơi phát hiện viêm não này lần đầu tiên vào năm 1963. Bệnh thường gặp ở trẻ em.

- Viêm não Tây sông Nin (West Nile encephalitis). Bệnh lưu hành ở châu Phi, Trung Đông, một phần châu Âu, Nga, Ấn độ và Indonesia. Bệnh phát hiện ở Hoa Kỳ lần đầu tiên vào năm 1999. Cũng giống như các vi rút arbo khác, vi rút gây Viêm não Tây sông Nin có ổ chứa là chim và véc tơ truyền bệnh là muỗi, tuy nhiên trong một số hiếm trường hợp, bệnh lây qua truyền máu hay ghép tạng hay cho bú. Bệnh thường nhẹ nhưng cũng có thể trầm trọng nếu người bệnh bị suy giảm miễn dịch.

Vi rút gây VNNB và Dengue - do muỗi và ve truyền. Gần đây, ghi nhận một số vụ dịch do vi rút Zika gây hội chứng Guillain – Barre ở trẻ nhỏ.



Hình 1.13. Vi rút Viêm não Nhật Bản. Cấu trúc vi rút Viêm não Nhật Bản (a), tổ chức bộ gen (b) cấu trúc bao ngoài (c) [28]

Vi rút VNNB thuộc họ Flaviviridae, chi Flavivirus, cấu trúc phân tử của nó có dạng hình cầu, capsid đối xứng hình khối, đường kính hạt vi rút 40-50nm. Vật liệu di truyền là ARN sợi đơn dương, chứa toàn bộ thông tin di truyền của vi rút, chiều dài sợi ARN xấp xỉ 11kb, mã hóa cho 10 loại protein gồm 3 loại protein cấu trúc và 7 loại protein phi cấu trúc.

Protein cấu trúc gồm: Protein C (lõi) còn gọi là V2, là một polipeptid, có trọng lượng phân tử là 13,5kD gồm 136 acid amin. Protein M (màng) hay còn gọi là V1, là một polypeptid, có trọng lượng phân tử 8,7kD, gồm 75 acid amin. Protein E (bao ngoài) còn hay gọi là V3, là glycoprotein, có trọng lượng phân tử 53 kD, gồm 500 acid amin. V3 đóng vai trò quan trọng cho sự xâm nhiễm của vi rút VNNB và sự khác nhau về động lực của vi rút VNNB trong tự nhiên. Protein bao ngoài còn giúp vi rút nhận ra những thụ thể đặc hiệu trên bề mặt tế bào cảm thụ, kích thích cơ thể sinh kháng thể trung hòa, đáp ứng miễn dịch tế bào và là kháng nguyên ngưng kết hồng cầu.

Protein không cấu trúc NS (non-structural protein): gồm 7 loại protein có ký hiệu là NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, NS5. Protein NS1 là glycoprotein rất kỵ nước, có trọng lượng phân tử xấp xỉ 46kD, trong giai đoạn nhiễm vi rút, sự đáp ứng miễn dịch dịch thể mạnh mẽ được hình thành để kháng lại protein này. Protein NS2a và NS2b kỵ nước, NS2a có trọng lượng phân tử rất nhỏ xấp xỉ 22kD, NS2b xấp xỉ 14kD. Protein NS3 là protein đa chức năng giúp cho sự xâm nhiễm và nhân lên của ARN trong tế bào nhiễm vi rút. NS3 có trọng lượng phân tử rất lớn xấp xỉ 70kD. Protein NS4a và NS4b rất nhỏ, có trọng lượng phân tử tương ứng là 16kD và 27kD, là protein kỵ nước. Protein NS5 rất lớn, có trọng lượng phân tử 103kD, rất bền vững, là protein có nhiều chức năng với enzyme methyltransferase (MTase) và hoạt tính RdRP (RNA dependent RNA polymerase-ARN polymerase phụ thuộc ARN) [57].

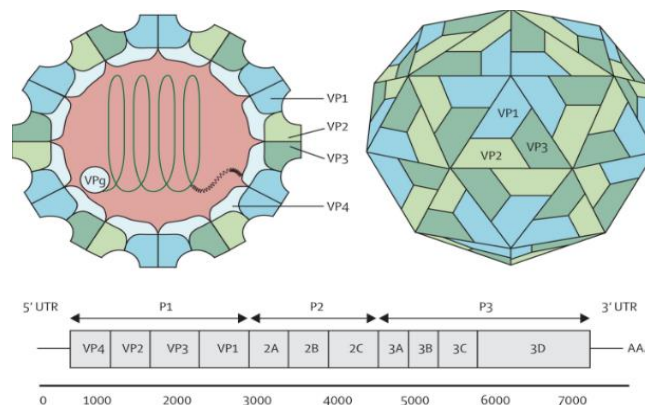
Vi rút VNNB tồn tại trong tự nhiên ở các loài chim nước và một số loài chim ăn quả, các loài động vật/gia súc lớn như lợn, ngựa, bò, dê. Mức độ cảm nhiễm của các loài đối với vi rút VNNB khác nhau. Chim và lợn là những vật chủ quan trọng nhất cho sự nhân lên và lan rộng vi rút VNNB. Lợn được coi là nguồn nhiễm vi rút huyết quan trọng truyền cho muỗi. Người chủ yếu bị nhiễm vi rút VNNB từ muỗi hút máu lợn trong giai đoạn nhiễm vi rút huyết [28],[1],[3],[56],[122].

1.3.2. Vi rút đường ruột gây Viêm não vi rút

VRĐR là một chi thuộc họ Picornaviridae, chi bao gồm 15 loài, trong số đó VRĐR loài A, B, C và D có khả năng gây bệnh cho người và mỗi loài bao gồm rất

nhều kiểu/kiểu huyết thanh (type/serotype). Các VRĐR loài A chứa hầu hết các thành viên của Coxsackievirus và các VRĐR mới phát hiện, gồm EV-A71, EV-A89 đến CV-A91, EV-A114, EV-A119 đến EV-A121. VRĐR loài B bao gồm toàn bộ thành viên của Coxsackievirus B và Echovirus. VRĐR loài C bao gồm số thành viên còn lại của Coxsackievirus A và thành viên của Poliovirus. VRĐR loài D bao gồm EV-D68, EV-D70, EV-D94, EV-D111, EV-D120. Bộ gen của VRĐR là sợi RNA đơn, dương. Độ dài của bộ gen trung bình khoảng 7.4kb, bao gồm 4 vùng: vùng không mã hóa 5' (NTR), một khung đọc mở đơn (ORF), vùng không mã hóa 3' và đuôi poly A. Hạt VRĐR không có vỏ, hình cầu, cấu trúc đối xứng, đường kính khoảng 30nm. Vỏ capsid được cấu tạo bởi bốn protein cấu trúc, VP1, VP2, VP3 và VP4 [138].

Các VRĐR là căn nguyên của nhiều bệnh khác nhau, bao gồm các bệnh liên quan đến thần kinh, hô hấp, da và đường ruột. Bệnh cảnh lâm sàng liên quan đến nhiễm VRĐR được nghiên cứu đầu tiên và chi tiết nhất là bệnh bại liệt do vi rút polio. Các VRĐR không phải polio (Non-Polio Enterovirus, NPEV) là căn nguyên của rất nhiều hội chứng lâm sàng khác nhau có liên quan đến các hệ cơ quan, bao gồm hệ thống thần kinh trung ương (CNS) (viêm màng não vô khuẩn, liệt mềm cấp (AFP), viêm não, viêm tủy ngang, hội chứng Guillain-Barre), hệ thống cơ (chứng đau nhói ngực, bệnh viêm cơ cấp), hệ thống hô hấp (nhiễm đường hô hấp trên, viêm phổi), hệ thống da và màng nhầy (ngoại ban, viêm họng mụn nước, tay chân miệng), hệ thống mắt (viêm kết mạc cấp), hệ thống tim (bệnh viêm màng ngoài tim và viêm cơ tim) và các bệnh giống nhiễm trùng máu sơ sinh.



Hình 1.14. Cấu trúc vi rút đường ruột [138]

Các VRĐR là nguyên nhân gây đến 90% các ca viêm màng não vô khuẩn đã xác định được căn nguyên ở trẻ em và người lớn. Chúng là tác nhân phổ biến gây viêm màng não vô khuẩn ở trẻ em và người lớn ở các nước thu nhập cao.

Viêm màng não do nhiễm VRĐR (viêm màng não VRĐR) có các triệu chứng khởi phát cấp điển hình bao gồm sốt, đau đầu, sợ ánh sáng, chuyển động mắt đau. Buồn nôn và nôn. Cứng gáy, dấu hiệu Brudzinsk và Kernig và chứng kích thích màng não, kích động, lơ mơ, hôn mê có thể xuất hiện. Trong một số trường hợp, sốt được ghi nhận có thuyên giảm nhưng sẽ tái phát vài ngày sau khi kết hợp với các triệu chứng của viêm màng não. Các triệu chứng toàn thân, dựa vào đó có thể xác định căn nguyên là VRĐR, bao gồm tiêu chảy, đau cơ, ban, đau nhói ngực, viêm cơ tim và viêm họng mụn nước. Các triệu chứng thường tự hồi phục trong vòng một tuần mặc dù sự bất bình thường của dịch não tủy có thể vẫn còn dai dẳng trong vài tuần. Di chứng thần kinh hiếm gặp và hầu hết người bệnh đều có dự đoán về sự tiến triển của bệnh rất tốt [1], [138], [139].

Viêm não do VRĐR ít phổ biến hơn viêm màng não vô khuẩn. Đôi khi các ca viêm màng não do VRĐR có thể chuyển dạng của viêm não và thường nhận ra qua những dấu hiệu cơ bản bao gồm tình trạng hôn mê ngày càng nặng, mất định hướng, và đôi khi lên cơn tai biến. Ít phổ biến hơn, bệnh có thể phát triển thành viêm não nặng từ ban đầu. Ở người bệnh có sức đề kháng bình thường, thường sẽ có dự đoán bệnh tiến triển tốt.

Hầu hết các VRĐR lan truyền chủ yếu theo đường phân – miệng từ các ngón tay hay các vật thể bị nhiễm phân. Thức ăn hay nước nhiễm vi rút cũng có thể gây bệnh. Một số VRĐR nhất định có thể lây nhiễm trực tiếp từ tay đến mắt. Sự truyền nhiễm qua không khí cũng quan trọng đối với một số vi rút gây bệnh đường hô hấp. Vật chủ tự nhiên của các VRĐR loài A-D là người [1].

Các VRĐR có sự phân bố rộng khắp thế giới và thường lưu hành nổi trội vào mùa hè ở vùng khí hậu ôn đới và vào mùa mưa ở các nước nhiệt đới. Viêm màng não do VRĐR thường xảy ra vào mùa hè và mùa thu ở vùng ôn đới trong khi viêm màng não vi rút do các tác nhân khác (ví dụ vi rút quai bị) thường xảy ra vào mùa đông và

xuân. NPEV là các tác nhân phổ biến nhất gây bệnh viêm màng não vô khuẩn ở Mỹ, đặc biệt là vào cuối xuân và mùa thu. Viêm màng não do VRĐR thường nặng ở người lớn hơn ở trẻ nhỏ. Tùy vào từng nước, khoảng 10-20% các ca Viêm não vi rút là do VRĐR.

Tác nhân phổ biến gây bệnh bao gồm EV-A71, các vi rút Coxsackie và các vi rút ECHO. EV-A71 là một trong những tác nhân VRĐR chính gây bệnh tay chân miệng (TCM) dẫn đến biến chứng viêm màng não/viêm não ở trẻ em. Các tác nhân khác cũng được báo cáo gây bệnh TCM có biến chứng đến viêm màng não vô khuẩn như CV-A16, CV-A6, CV-A10, CV-A4, và E-9 tại Trung Quốc. Ngoài EV-A71, các VRĐR thường liên quan đến các vụ dịch viêm màng não vô khuẩn bao gồm E-30, E-6, CV-A9, CV-B3 và CV-B5. Trong một vụ dịch viêm màng não tại Bỉ vào mùa hè năm 2000, E-30, E-13, E-6 và CV-B5 là bốn kiểu chính gây bệnh, chiếm hơn 90% số mẫu dương tính với VRĐR [130]. Vụ dịch khác ở Tây Ban Nha trong năm 2006 cũng cho thấy E-30 là tác nhân gây bệnh nổi trội nhất, tiếp theo là E-6 [80]. Tương tự, nghiên cứu trên các ca viêm màng não tại Brazil giai đoạn 2013-2017 phân lập được đến 19 kiểu VRĐR, trong đó E-30, E6 là hai tác nhân nổi trội nhất, chiếm 67% [99]. Tại Trung Quốc năm 2009-2010, E-9, CV-B5 và E-30 là 3 kiểu VRĐR chính gây bệnh [148]. Một nghiên cứu khác cũng tại Trung Quốc, giai đoạn 2006-2012 cho thấy, CV-B2, CV-B5, E-9, EV-A71, CV-B1 và CV-B3 là các kiểu VRĐR chính lưu hành gây bệnh từng năm, theo thứ tự... [131] Như vậy, sự lưu hành của các VRĐR gây bệnh rất đa dạng và có tính biến động.

1.3.3. Vi rút Herpes gây Viêm não vi rút

1.3.3.1. Vi rút Herpes simplex

HSV được xếp vào họ Herpesviridae, dưới họ Herpesvirinae, giống Simplexvirus, gồm hai loài HSV-1 và HSV-2 hay còn gọi là HSV típ 1 và típ 2. HSV là những vi rút gây nhiễm tiềm tàng tại hạch thần kinh giao cảm và có khả năng tái hoạt động.

Nhiễm HSV ở người đã được ghi nhận từ thời Hy Lạp cổ đại, đặc biệt trong nhiều bệnh án của Hippocrates với mô tả những tổn thương da lan rộng. Những tiến

bộ về khoa học kỹ thuật của thế kỷ XX đã đem lại nhiều thành quả quan trọng trong nghiên cứu. Một trong số những thành tựu quan trọng của chuỗi lịch sử tự nhiên của nghiên cứu HSV là điều trị liệu pháp và ứng dụng những kỹ thuật sinh học phân tử để xác định đặc điểm sinh học và di truyền ở mức độ phân tử của HSV. Y văn của những năm 1940 và 1950 ghi nhận các bệnh đặc thù do HSV gây ra trong đó có viêm não do Herpes - một trong số các dạng nhiễm Herpes nặng nhất.

Ở những nước công nghiệp phát triển châu Âu và Mỹ, đã có những nghiên cứu xác định nguyên nhân nhiễm trùng gây viêm não - màng não như vi khuẩn, rickettsia, vi rút, nấm, ký sinh trùng, và tác nhân gây bệnh bò điên (prion). Với những nước không lưu hành bệnh Viêm não Nhật Bản, trong số hàng loạt tác nhân vi rút gây tổn thương hệ thống thần kinh trung ương thì HSV là nhóm quan trọng nhất và đứng hàng đầu, thậm chí trên cả vi rút arbo, vi rút đường ruột và HIV, đồng thời HSV cũng đứng hàng đầu trong nhóm các vi rút Herpes gây tổn thương hệ thống thần kinh trung ương, trên cả vi rút Varicella-Zoster (VZV), vi rút Epstein-Barr (EBV), hCMV và vi rút Herpes 6 gây bệnh ở người (HHV-6). Tuy nhiên, mỗi châu lục, mỗi quốc gia đưa ra một con số thống kê khác nhau với tỷ lệ nhiễm có thể từ 1% đến 10%, thậm chí có những nước đưa ra con số 20% (Pháp: 14%; Phần Lan: 11%; Nhật Bản: 20%; Hoa Kỳ: 20%,...) [71], [98].

Với người lớn và trẻ lớn, vi rút gây nên bệnh cảnh viêm não hoại tử và xuất huyết, điển hình là tổn thương vùng thái dương hoặc thái dương - trán một bên não. Tiến triển tự nhiên của bệnh rất nặng, tỷ lệ tử vong hơn 70%, di chứng thần kinh nặng nề nhưng nếu được điều trị bằng ACV sớm thì bệnh cảnh lâm sàng có thể hồi phục nhanh chóng. HSV thường gây viêm não rải rác, 95% là do HSV-1, bao gồm cả viêm não tiên phát và viêm não do HSV thể ẩn tái hoạt động. Viêm não do Herpes chủ yếu là viêm não rải rác, với tổn thương một hoặc hai bên thùy thái dương, có các biểu hiện lâm sàng đa hình thái xong không đặc hiệu từ viêm màng não không điển hình và sốt cho đến tổn thương thần kinh nặng nề và tiến triển nhanh đến mất ý thức và đi vào hôn mê sâu. Tỷ lệ viêm não do HSV ở người lớn chiếm 4 phần triệu dân số một năm. Trước khi xuất hiện các triệu chứng thần kinh khoảng 2 tuần, người bệnh thường

có biểu hiện như cảm cúm thông thường. Tổn thương thường xuất hiện ở thùy thái dương, nếu được điều trị kịp thời bằng ACV thì kết quả phục hồi của người bệnh rất khả quan. Triệu chứng lâm sàng của viêm não thể khu trú do HSV ở nhóm đối tượng này là chỉ thị khu vực bệnh học tại não. Những chỉ thị này gồm viêm não thể khu trú tiên phát có kèm sốt, rối loạn ý thức, hành vi bất thường, rối loạn tâm thần và các triệu chứng thần kinh khu trú. Những triệu chứng và hội chứng lâm sàng này thường đi kèm với tiêu chuẩn chẩn đoán thần kinh của bệnh của thùy thái dương. Không có các dấu hiệu đặc trưng bệnh riêng cho viêm não do Herpes; tuy nhiên, với các mức độ rối loạn ý thức, sốt và công thức dịch não tủy bất thường và các dấu hiệu thần kinh khu trú khi đã loại trừ các nguyên nhân khác thì cần phải chú ý tới nguyên nhân Herpes. Những đánh giá chẩn đoán khác cũng phải được thực hiện ngay vì những bệnh khác có thể điều trị được rất giống viêm não do Herpes. Chỉ có 2,5% tổng số người bệnh viêm não do Herpes là có khả năng hồi phục chức năng thần kinh trở về bình thường. Những yếu tố tiên lượng xấu: điều trị đặc hiệu muộn sau 4 ngày xuất hiện triệu chứng thần kinh, tuổi trên 30, rối loạn ý thức ngay từ đầu.

Triệu chứng lâm sàng của viêm não (đơn thuần hoặc lan tỏa) ở trẻ em gồm có co giật (khu trú hay toàn thân), hôn mê, kích thích, rung giật, kém ăn, rối loạn về nhiệt độ, phồng thóp và các dấu hiệu thần kinh bó tháp. Trong khi đó, những trẻ bị nhiễm lan tỏa thường có tổn thương bọt nước ở da đi kèm với tổn thương não, ở trẻ chỉ bị viêm não đơn thuần thì tổn thương da chỉ có ở khoảng 60% các ca trong giai đoạn viêm não. 50% trẻ có tổn thương hệ thống thần kinh trung ương khu trú không được điều trị tử vong và thường liên quan đến hội chứng não. Những ca sống sót hiếm hoi thì bao giờ cũng có di chứng thần kinh nặng nề. Những ca bị viêm não lan tỏa có tiên lượng rất xấu. Khoảng 50% trẻ sống sót có rối loạn tâm thần, thường là nhỏ sọ, não úng thủy, viêm não thể nang, co cứng, mù, học kém.

Chẩn đoán viêm não - màng não nghi do Herpes bao gồm cả xét nghiệm dịch não tủy, điện não đồ và một hoặc vài kỹ thuật chẩn đoán hình ảnh như chụp cắt lớp (CT), chụp hình ảnh âm vang từ trường (MRI). Phát hiện kháng nguyên vi rút trong dịch não tủy thường không nhạy, ít khi phân lập được vi rút trong dịch não tủy, phát

hiện dấu hiệu tổng hợp kháng thể trong dịch não tủy chỉ có thể thực hiện được sau khi xuất hiện triệu chứng thần kinh trên lâm sàng 15 ngày, sinh thiết tổ chức não trên thực tế thường không được đặt ra.

Chính vì những lý do đã nêu trên mà việc chẩn đoán phòng thí nghiệm vi rút học nhanh và có ý nghĩa viêm não – màng não do Herpes thường được đưa lên hàng đầu và một khi đã chẩn đoán được viêm não do HSV, có thể áp dụng các phương pháp khống chế bệnh không đặc hiệu (điều trị triệu chứng) và đặc hiệu (điều trị đặc hiệu bằng thuốc kháng vi rút).

Ở nước ta, chẩn đoán vi rút học HSV chưa được quan tâm nhiều và cho đến thời điểm hiện tại, chủ yếu chỉ có những chẩn đoán lâm sàng viêm não do HSV mà chúng tôi chưa tìm thấy một nghiên cứu chẩn đoán xác định vi rút học nguyên nhân gây tổn thương hệ thống thần kinh trung ương, trong đó có viêm não - viêm màng não cấp tính do vi rút này. Trong khi đó, các tác giả trong nước và ngoài nước thống kê rằng vẫn còn 40 - 50% những ca được chẩn đoán viêm não, viêm màng não, hội chứng não cấp chưa xác định được căn nguyên. Với HSV, chưa có vắc xin phòng bệnh đặc hiệu, một khi vi rút đã vào cơ thể thì chúng có thể tồn tại suốt đời ở dạng episome và có thể tái hoạt động nên nguồn truyền bệnh luôn tồn tại trong cộng đồng, việc thăm dò xác định sự có mặt của ADN HSV của những ca bệnh có tổn thương hệ thống thần kinh trung ương là rất cần thiết và tối ưu vì đây là phương pháp không xâm nhập tổ chức não. HCVNC do HSV-1 là bệnh vi rút có thuốc đặc trị, đó là Acyclovir. Thuốc giúp giảm tỷ lệ tử vong từ 70% xuống còn 19% và tăng tỷ lệ hồi phục hoàn toàn chức năng thần kinh lên 38%. Sử dụng thuốc càng sớm thì khả năng hồi phục càng cao, do vậy chẩn đoán phát hiện HCVNC do HSV rất quan trọng để định hướng cho điều trị bệnh kịp thời [1].

1.3.3.2. Vi rút Cytomegalo

Cytomegalovirus gây bệnh ở người (tên thông thường là hCMV) hay vi rút Herpes gây bệnh ở người số 5 (Human Herpes Virus, tên tắt là HHV-5), là một trong các thành viên của họ Herpesviridae, dưới họ Betaherpesvirinae, giống

Cytomegalovirus. Vi rút này có quan hệ gần với các vi rút HHV-6 và HHV-7 của dưới họ Betaherpesvirinae.

Do là thành viên của họ Herpesviridae, nên hCMV cũng có vật liệu di truyền là ADN sợi kép (4 dạng phân tử) và 4 thành phần cấu trúc gồm genome (229kbp, tỷ lệ G+C là 57%), capsid (162 mặt), tegument, và vỏ ngoài. Ngoài ra, hCMV cũng có đặc điểm là gây nhiễm thể ẩn và tái hoạt động với vị trí nhiễm thể ẩn là ở tế bào CD34 của tủy xương, tế bào đơn nhân-đại thực bào, tế bào nội mô, chính vì vậy, khác với HSV, hCMV gây viêm não không phải theo con đường thần kinh mà theo đường máu.

Bệnh lý tiên phát của nhiễm hCMV là hội chứng mononucleoside (sốt, mệt mỏi, chán ăn, có thể phát ban...), tức là các triệu chứng không đặc hiệu. Cho đến nay, người ta vẫn chưa rõ bệnh lý tái hoạt động của hCMV là gì. Cytomegalovirus gây bệnh ở người là vi rút có thể lây truyền từ mẹ sang con, trong đó mẹ nhiễm tiên phát nặng hơn nhiễm thứ phát khi có thai. Hậu quả bệnh lý của thai nhi là nhiễm Cytomegalovirus bẩm sinh (mẹ nhiễm hCMV tiên phát khi có thai). Bệnh lý thể nặng của nhiễm hCMV là các nhiễm trùng cơ hội ở những người bệnh AIDS và bệnh lý thể đặc biệt của nhiễm hCMV là viêm võng mạc, viêm phổi kẽ (trong ghép tủy xương) và viêm não. Tổn thương viêm não do hCMV gây ra cũng là tổn thương thực thể tại tổ chức não.

Trong chẩn đoán phòng thí nghiệm: tùy thể bệnh lâm sàng mà hCMV có thể có mặt ở nước tiểu, máu, nước bọt, tinh dịch, sữa mẹ, dịch não tủy, dịch tiết âm đạo, tã trẻ em.... Trong viêm não, bệnh phẩm chẩn đoán là dịch não tủy.

Tốc độ nhân lên của vi rút rất chậm (khoảng 4 tuần mới phân lập được vi rút trên nuôi cấy tế bào) nên nuôi cấy phân lập vi rút ít được áp dụng phổ biến cho chẩn đoán trên lâm sàng. Chẩn đoán huyết thanh học phát hiện kháng thể IgM không được áp dụng do không giống với các vi rút cổ điển, hCMV có thể tái hoạt động không triệu chứng và IgM có thể tăng trở lại. Xác định sự có mặt của kháng nguyên (pp65) của hCMV bằng miễn dịch huỳnh quang trong các tế bào bạch cầu nhưng kỹ thuật cũng phức tạp (phải phá hủy hồng cầu, chỉ lấy bạch cầu máu ngoại vi, đếm tế bào,

làm tiêu bản, ly tâm, nhuộm miễn dịch huỳnh quang...) hoặc nhuộm tế bào peroxidase có thể phát hiện được vi rút sau 24 giờ nuôi cấy phân lập trên tế bào nhưng kỹ thuật này thường rất không nhạy, tốn thời gian và phụ thuộc vào chủ quan người đọc. Hiện nay, phương pháp chẩn đoán và theo dõi điều trị được sử dụng nhiều nhất, chính xác nhất và nhạy nhất là phát hiện sự có mặt của ADN hCMV trong bệnh phẩm, đặc biệt với dịch não tủy. Ngoài ra, đã có nghiên cứu chứng minh rằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang phát hiện pp65 tương quan chặt chẽ với định lượng ADN.

1.4. Muỗi truyền bệnh Viêm não vi rút và Viêm não Nhật Bản

1.4.1. Muỗi truyền Viêm não vi rút

Một số VNVR không lây trực tiếp từ người sang người mà lây truyền qua véc tơ, trong đó quan trọng nhất là muỗi. Muỗi truyền bệnh VNVR phân bố rộng rãi ở nhiều quốc gia trên thế giới. Mỗi loại viêm não do vi rút được định hình theo vùng địa lý đặc trưng, mà ở đó có sự liên quan đến đặc điểm sinh học và sinh thái học của muỗi véc tơ truyền bệnh.

Hiện nay, các nhà khoa học đã xác định hơn 17 loài muỗi truyền bệnh VNNB, trong số đó có những loài đóng vai trò quan trọng làm lây lan vi rút VNNB như *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. vishnui*, *Cx. gelidus*, *Cx. pseudovishnui*, *Cx. fuscocephalus* và *Cx. pipiens*. Tuy nhiên, hai loài muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* được xác định là véc tơ chủ yếu truyền vi rút VNNB cho người [13, 43,106]. Ô chứa vi rút VNNB trong tự nhiên đã được xác định trên các loài động vật như chim, lợn. Hiện nay, bệnh VNNB lưu hành phổ biến ở các nước thuộc khu vực châu Á, trong đó có Việt Nam [3, 29, 119].

Bệnh Viêm não tuỷ ngựa miền Đông lưu hành ở phía đông và phía bắc Trung Mỹ, vùng giáp ranh Canada, rải rác ở khu vực Trung, Nam Mỹ và các đảo vùng Caribe là do muỗi *Aedes* và muỗi *Coquilletidia* truyền từ chim hoặc động vật sang người. Bên cạnh đó, muỗi *Culiseta melanura* cũng có thể truyền vi rút từ chim sang chim và sau đó vi rút lại được truyền sang người thông qua loài muỗi khác. Ngoài ra, bệnh Viêm não tuỷ ngựa miền Tây lưu hành tại miền Tây, miền Trung Hoa Kỳ,

Canada và một phần của Nam Mỹ do muỗi *Cx. tarsalis*, véc tơ này cũng truyền bệnh qua chim là vật chủ trung gian [36].

Bệnh Viêm não thung lũng Murray có vật chủ là chim thuộc họ hạc như diệc, cốc và véc tơ truyền bệnh là muỗi *Cx. annulirostris*. Lây nhiễm vi rút trên người chỉ liên quan tới vết đốt của muỗi bị nhiễm bệnh, vi rút không truyền từ người sang người. Bệnh thường được ghi nhận tại miền Bắc Úc, Papua New Guinea và thung lũng Murray trước đây gọi là Viêm não Úc.

Bệnh Viêm não vi rút Tây sông Nin lây truyền qua véc tơ là các loài muỗi họ *Culex* như *Cx. univittatus* ở châu Phi, *Cx. modestus* Nam Âu, *Cx. pipens molestus*, *Cx. quinquefasciatus* ở Nam Mỹ, ... Có tới gần 40 loài *Culex* ở châu Phi, châu Âu, châu Á và trên 37 loài ở châu Mỹ được phát hiện có thể mang vi rút Tây sông Nin. Ngoài ra một số giống muỗi khác như *Aedes*, *Mansonia*, *Ochlerotstus* có mặt ở các vùng lưu hành cũng có thể mang và làm lây truyền mầm bệnh [83, 124].

Các nhà khoa học cũng đã chứng minh rằng véc tơ truyền bệnh Viêm não Saint Louis là *Cx. tarsalis*, *Cx. pipiens*, *Cx. quinquefasciatus* và *Cx. nigripalpus*. Các loài muỗi này sau khi bị nhiễm vi rút từ chim sẽ truyền vi rút Viêm não Saint Louis cho người và động vật. Bệnh Viêm não Saint Louis chủ yếu được ghi nhận tại Hoa Kỳ, một số ít các ca mắc bệnh thỉnh thoảng được báo cáo từ Canada và Mexico [36].

1.4.2. Muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản

Có nhiều loài muỗi được xác định là véc tơ có khả năng truyền vi rút VNNB, trong đó chỉ có một số ít loài là véc tơ quan trọng. Nhiều nghiên cứu ở các nước có bệnh VNNB lưu hành đã xác định những loài muỗi đóng vai trò quan trọng làm lây truyền vi rút VNNB là *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. vishnui*, *Cx. gelidus*, *Cx. pseudovishnui* và *Cx. fuscocephalus*, *Cx. pipiens*. Trong đó hai loài muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* được xác định là véc tơ chủ yếu truyền vi rút VNNB cho người ở khu vực châu Á. Ngoài ra ít nhất có 11 loài muỗi khác đã bị nhiễm vi rút thử nghiệm trong phòng thí nghiệm. Vi rút VNNB cũng đã được phát hiện ở nhiều loài muỗi trên đồng ruộng. Theo David W Vaughn thì có 17 loài muỗi truyền bệnh

VNNB, trong đó có 2 loài *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* là véc tơ có khả năng truyền bệnh cao nhất [100].

1.4.2.1. Đặc tính của muỗi véc tơ Viêm não Nhật Bản

Muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* ưa hút máu động vật như lợn và chim hơn máu người, vì vậy nơi muỗi thường tập trung để tìm vật chủ chủ yếu là chuồng gia súc. Muỗi truyền bệnh VNNB thường hoạt động hút máu vào ban đêm, mạnh nhất là từ 18 giờ đến 22 giờ và tiêu sinh ở ngoài nhà, nên ít khi bắt được muỗi này ở trong nhà vào ban ngày. Tuy nhiên vào các thời gian bất thường như trời giá rét hoặc mùa phát triển của muỗi với chỉ số mật độ cao thì muỗi VNNB cũng chủ động vào nhà đậu nghỉ vào ban ngày [27]. Muỗi truyền bệnh VNNB được gọi là muỗi đồng ruộng vì nơi trú đậu của muỗi ngoài nhà, mà chủ yếu ở đồng ruộng. Nơi sinh sản của chúng rất đa dạng nhưng chủ yếu là ruộng lúa nước, ruộng mạ, hồ (vũng) nước nhỏ, mương máng nhỏ, dụng cụ chứa nước quanh nhà vùng nông thôn [40].

1.4.2.2. Thành phần các loài muỗi truyền Viêm não Nhật Bản

Ở miền Bắc Việt Nam, cho đến nay đã xác định được 3 loài muỗi là véc tơ truyền bệnh VNNB là *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. vishnui*, và *Cx. gelidus*. Muỗi hút máu động vật có nhiệm vụ rút VNNB trong thời kỳ nhiễm vi rút huyết không những có khả năng truyền bệnh mà còn có thể truyền vi rút sang thế hệ sau qua trứng [41], 52]. Trong các điều tra về muỗi VNNB ở Việt Nam, tỷ lệ các loài muỗi truyền VNNB bao giờ cũng cao so với các loài muỗi khác. Nhìn chung mật độ muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* bao giờ cũng cao hơn mật độ muỗi *Cx. vishnui* và *Cx. gelidus* cả ở chuồng gia súc và trong nhà ở [50]. Muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* phân bố rộng rãi từ đồng bằng, thành phố tới các vùng trung du và miền núi. Tỷ lệ các điểm có muỗi này giảm dần theo thứ tự trên. Các tác giả cũng nhận định, một trong những yếu tố dẫn đến tỷ lệ các điểm có muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* giảm dần từ đồng bằng, thành phố tới các vùng trung du và miền núi là do sự thu hẹp diện tích trồng lúa ở các tỉnh trung du và miền núi [27], [36].

1.4.2.3. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của muỗi Viêm não Nhật Bản

Các yếu tố thời tiết, khí hậu và hoạt động canh tác có tác động rất lớn đến sự sinh sản và phát triển của muỗi VNNB. Ở vùng nhiệt đới muỗi truyền VNNB phát triển quanh năm, nhưng thường phát triển mạnh vào các tháng mùa hè, mưa nhiều. Đồng thời việc tưới tiêu cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của muỗi VNNB. Khi không có mưa nhưng vào thời gian các ruộng lúa được tưới nước đầy đủ thì mật độ muỗi VNNB cũng tăng cao. Ngoài ra, các yếu tố về sinh thái môi trường cũng có tác động đến sự phát sinh và phát triển của muỗi véc tơ [36, 27].

Tháng 3 đến tháng 9 là những tháng có nhiệt độ cao và mưa nhiều phù hợp với sự phát triển của muỗi, vì vậy lúc này các chỉ số muỗi truyền bệnh VNNB tăng cao. Hiện tượng này liên quan đến việc canh tác, tưới nước cho các cánh đồng lúa: tháng 4 lúa đang thì con gái, ruộng lúa được cung cấp đầy đủ nước cho sự phát triển của lúa. Chính các ruộng lúa có nước là điều kiện lý tưởng để muỗi véc tơ sinh sản và phát triển. Như vậy ngoài mùa mưa thì hoạt động canh tác, trong đó việc cấp nước cho lúa cũng liên quan mật thiết tới mật độ muỗi VNNB [27].

1.5. Gánh nặng kinh tế và chi phí điều trị của bệnh Viêm não vi rút

1.5.1. Gánh nặng của bệnh Viêm não vi rút

VNVR là bệnh nguy hiểm do nhiều loại vi rút có ái lực với tế bào thần kinh gây ra. Triệu chứng lâm sàng đa dạng, trong đó hội chứng não cấp là chủ yếu, gây rối loạn ý thức ở nhiều mức độ khác nhau, để lại di chứng thần kinh và gây tử vong cao. Nghiên cứu phân tích của Jmor và cộng sự năm 2008 tập hợp 87 nghiên cứu viêm não cấp trên thế giới cho thấy tỷ lệ viêm não cấp tính ở các nước phương Tây trong những năm gần đây là 10,5 đến 13,8/100.000 trẻ em, tỷ lệ này trên người trưởng thành là khoảng 2,2/100.000 người [77]. Chỉ tính riêng Viêm não Nhật Bản, ước tính trong giai đoạn từ 2000-2015 có khoảng 1.976.238 ca mắc trên toàn cầu (95%CI: 1.722.533-2.725.647). Trong đó, riêng năm 2015 số ca mắc là 100.308 (95%CI: 61.720-157.522) và số ca tử vong là 25.125 (95%CI: 14.550-46.031) [114]. Số người mắc VNNB ở 24 quốc gia Đông Nam Á và Tây Thái Bình Dương mỗi năm khoảng 67.900 ca (1,8 ca/100.000 dân) [62] và số người có nguy cơ bị nhiễm bệnh lên tới 3

tỷ người [145]. Ước tính gánh nặng bệnh tật do VNNB năm 2020 là khoảng 265.778-1.859.170 DALYs [95].

Theo nghiên cứu công bố năm 2002 của tác giả Khetsuriami và cộng sự về gánh nặng bệnh tật của bệnh VNVR tại Mỹ giai đoạn 1988-1997 cho thấy ở giai đoạn này trung bình mỗi năm Mỹ có gần 19.000 ca nhập viện (7,3 ca bệnh nhập viện/100.000 dân), 230.000 ngày điều trị và 1.400 người tử vong liên quan VNVR. Chi phí trung bình cho một lần điều trị của bệnh ở thời điểm năm 1997 là 28.151 USD, và tổng chi phí quốc gia hàng năm cho VNVR là 650 triệu USD [87]. Ở giai đoạn tiếp theo, 2004 - 2013, các nhà nghiên cứu Mỹ dựa trên cơ sở dữ liệu từ 7.298 trẻ nhập viện do VNVR đã cho thấy thời gian điều trị trung bình là 16 ngày, đặc biệt đối với những trẻ vào khoa điều trị tích cực nhi, thời gian điều trị lên tới 25 ngày. 60% trẻ được thực hiện chọc dịch não tủy và cấy máu, và tiến hành các xét nghiệm xác định vi rút và arbo-vi rút. 6% được chụp cắt lớp vi tính và 9% cần phải chụp cộng hưởng từ. Bên cạnh đó, 16,6% được điều trị bằng globulin miễn dịch tiêm tĩnh mạch và 41% điều trị bằng methylprednisolone. Chi phí trung bình điều trị cho người bệnh cấp tính là 64.604 USD và 260.012 USD cho trẻ em ở khoa điều trị tích cực nhi [46].

Năm 2013 ở Nepal các tác giả đã công bố kết quả phân tích các ca trẻ em viêm não cấp/Viêm não Nhật Bản nhập viện ở hai bệnh viện lớn, cho thấy chi phí phát sinh của các gia đình có trẻ em điều trị viêm não cấp/Viêm não Nhật Bản ở mức độ nặng/trung bình, bao gồm chi phí điều trị, thuốc và số tiền thu nhập mất đi khi chăm sóc người nhà nằm viện là 1.151 USD (tương đương 10 lần thu nhập trung bình hàng tháng của hộ gia đình) và đối với các ca bệnh nhẹ/ít biến chứng là 524 USD (tương đương 4,6 lần thu nhập của gia đình người bệnh) [63].

Tại khu vực Mekong, đánh giá của tác giả Tarantola và cộng sự cho thấy chi phí trực tiếp và gián tiếp điều trị Viêm não Nhật Bản, bao gồm cả chi phí nằm viện và chăm sóc, có thể tương đương 10 tháng lương của một người dân ở Campuchia. Chi phí cho phòng bệnh viêm não từ các căn nguyên khác như vi rút dại có thể tới một tháng lương, hay do sốt xuất huyết có thể mất đi nửa tháng lương đối với người dân ở vùng nông thôn Campuchia. Viêm não thường để lại di chứng nghiêm trọng trên

người bệnh, tác động mạnh tới thu nhập và các hoạt động sinh hoạt của cá nhân cũng như hộ gia đình có người bị bệnh [107].

Tại Việt Nam, một khảo sát tình hình viêm não cấp từ năm 1998 đến năm 2007 trên cả nước nhận thấy viêm não cấp tính xuất hiện ở cả 64 tỉnh thành, với tỷ lệ mắc trung bình ở các tỉnh phía Bắc là 3,0 ca/100.000 dân và phía Nam là 1,9 ca/100.000 dân với căn nguyên chủ yếu là do vi rút VNNB [146] [128]. Theo số liệu niên giám thống kê bệnh truyền nhiễm năm 2017, cả nước có tới 1.180 ca mắc và 37 ca tử vong do VNVR, số ca mắc tính trên 100.000 dân là 1,18 và số ca tử vong trên 100.000 dân là 0,04 [8]. Tỷ lệ mắc viêm não cấp tính ở miền Bắc cao hơn miền Nam với gần 60% ca được ghi nhận tại các tỉnh phía Bắc, các ca mắc bệnh viêm não cấp thường gặp vào mùa hè do tính chất mùa rõ rệt của VNNB [1]. Tuy nhiên cho đến nay chưa một nghiên cứu nào ở Việt Nam đưa ra phân tích về gánh nặng bệnh tật và đặc biệt là gánh nặng kinh tế mà bệnh VNVR gây ra cho người bệnh và gia đình.

1.5.2. Chi phí điều trị bệnh tật

1.5.2.1. Khái niệm

Chi phí hay còn gọi là giá thành (cost) của một loại hàng hóa, dịch vụ hay hoạt động là giá trị (thường quy ra tiền) của tất cả các nguồn lực cần thiết để tạo ra hàng hóa, dịch vụ hay hoạt động đó.

Phân tích chi phí điều trị bệnh tật ngày càng trở nên thông dụng trong nghiên cứu chăm sóc sức khỏe. Ban đầu, phân tích chi phí điều trị bệnh tật được sử dụng để đưa ra bằng chứng cho thương thảo nhằm nhận được nhiều kinh phí hơn cho chăm sóc sức khỏe của người cung cấp dịch vụ y tế. Theo Drummond, nghiên cứu phân tích chi phí điều trị bệnh đánh giá gánh nặng tài chính của bệnh ở mức độ cá nhân và cộng đồng. Bên cạnh đó, chi phí điều trị bệnh tật cung cấp những thông tin cơ bản để có thể dựa vào đó đánh giá hiệu quả của can thiệp. Ngoài ra, phân tích chi phí điều trị bệnh giúp cho việc xác định ưu tiên trong chăm sóc sức khỏe [55].

1.5.2.2. Phương pháp tính toán chi phí

Tùy theo sự sẵn có của số liệu, thời gian, kinh phí và kỹ năng tính toán, có thể tính toán chi phí theo một trong hai hoặc kết hợp cả hai phương pháp dưới đây:

**) Phương pháp từ dưới lên (bottom-up, micro costing, ingredient):*

Phương pháp này được tiến hành bằng việc: 1) Xác định các loại nguồn lực cần thiết; 2) Xác định số lượng đơn vị từng nguồn lực; 3) Xác định chi phí đơn vị từng nguồn lực; 4) Xác định chi phí từng loại nguồn lực; và 5) Xác định chi phí chung.

Phương pháp từ dưới lên sẽ giúp việc ước tính chi phí chính xác hơn nhưng thường phức tạp và tốn thời gian hơn.

**) Phương pháp từ trên xuống (top-down, gross, average costing):*

Phương pháp này được tiến hành bằng việc: 1) Xác định tổng chi phí; 2) Số lượng đơn vị sản phẩm/dịch vụ; và 3) Xác định chi phí trung bình.

Phương pháp từ trên xuống đơn giản, tốn ít thời gian nhưng ít chính xác hơn phương pháp từ dưới lên [5] [41].

1.5.2.3. Phân loại chi phí

Trong phân tích chi phí bệnh viện, chi phí được thể hiện bằng đơn vị tiền, nhưng thành phần các chi phí có thể khác nhau một cách đáng kể khi xác định tổng chi phí gồm những chi phí nào. Trong phân tích chi phí cho các chương trình/hoạt động chăm sóc sức khỏe, các chi phí có thể được nhóm theo các nhóm như sau: 1) chi phí trực tiếp cho y tế; 2) chi phí trực tiếp không cho y tế và 3) chi phí gián tiếp.

() Chi phí trực tiếp cho y tế*

Chi phí trực tiếp cho y tế được xác định là những nguồn lực được người cung cấp dịch vụ sử dụng trong chăm sóc sức khỏe. Ví dụ chi phí y tế trực tiếp tại bệnh viện là : 1) vắc xin, thuốc; 2) xét nghiệm; 3) các vật tư y tế; 4) sử dụng các thiết bị chẩn đoán - chẩn đoán từ CT scan và X-quang; 5) thời gian của cán bộ y tế cho nhân sự như bác sĩ, y tá, kỹ thuật viên; 6) phòng ốc, chi phí cho vật tư và trang thiết bị và nhân sự cần thiết cho người bệnh nằm lâu; và những chi phí của các dịch vụ có liên quan như đồ ăn, giặt là và vệ sinh. Những chi phí này có thể có liên quan trực tiếp đến điều trị cho người bệnh. Những chi phí khác gồm duy tu và bảo dưỡng, điện nước, điện thoại, kế toán, phí trả luật sư, bảo hiểm, thuế [26], [34], [104].

() Chi phí trực tiếp không cho y tế*

Những tài liệu kinh tế đã đưa ra định nghĩa chung cho chi phí không cho y tế là tiền chi trả từ túi người bệnh cho các khoản chi không cho khám chữa bệnh. Loại chi phí này gồm: chi phí đi lại từ nhà đến bệnh viện, phòng khám và ngược lại; chi phí đi lại và ở trọ của người nhà người bệnh, cho những thành viên ở nơi khác đến; chi phí cho ăn, uống; chi phí cho các dịch vụ chăm sóc tại nhà; chi phí cho đóng bảo hiểm; chi phí cho điều trị không do cơ quan thứ ba chi trả.

Mặc dù những chi phí này thường được định nghĩa là "chi phí không cho y tế" nhưng đó là chi phí thực tế và là khoản phải trả cố định cho chăm sóc y tế. Sở dĩ gọi các chi phí này như vậy là do khoản chi này không do người cung cấp dịch vụ chi trả. Chi phí đi lại cao khiến cho người bệnh có thể bỏ các buổi khám theo dõi sau đó và điều này có thể dẫn đến những biến chứng; tất cả các tình trạng trên đều dẫn đến việc tăng chi phí điều trị cho người cung cấp dịch vụ. Mặc dù vậy, những chi phí này có thể không do người cung cấp dịch vụ gánh chịu trực tiếp. Những chi phí này có thể được sử dụng trong những tình huống để cảnh báo cho người cung cấp dịch vụ những ảnh hưởng kinh tế tiềm ẩn của những chi phí đó [53], [104].

() Chi phí gián tiếp*

Chi phí gián tiếp được định nghĩa là ảnh hưởng kinh tế chung đến cuộc đời người bệnh. Những chi phí này gồm: mất thu nhập do tạm thời hoặc một phần hoặc vĩnh viễn thương tật; sự giúp đỡ không được chi trả của người nhà người bệnh trong chăm sóc người bệnh; và mất thu nhập cho thành viên trong gia đình do phải nghỉ việc ở nhà chăm sóc người bệnh.

Cũng như chi phí không cho y tế, chi phí gián tiếp là một khoản thực tế người bệnh phải chi trả, tách khỏi người cung cấp dịch vụ - nhưng có thể có ảnh hưởng đến chi phí điều trị của người cung cấp dịch vụ. Ví dụ người bệnh không có việc làm có thể sẽ không có khả năng chi trả cho điều trị. Sự khó khăn về kinh tế có thể ảnh hưởng đến kết quả điều trị, dẫn đến những biến chứng nặng nề do dùng thuốc điều trị không đúng liều vì người bệnh tự giảm liều hoặc sử dụng không đủ liều theo đơn thuốc của bác sỹ để tiết kiệm tiền. Nhà cung cấp dịch vụ chăm sóc sức khỏe có thể phải chịu những chi phí thêm để giải quyết các biến chứng. Sự khó khăn về kinh tế có thể dẫn

đến việc người bệnh bỏ không đến khám lại, dẫn đến vấn đề cho người cung cấp dịch vụ như đã mô tả ở phần trước ở chi phí không cho điều trị [5] ,[41], [76], [111].

1.5.2.4. Quan điểm chi phí

Quan điểm chi phí (Cost perspective) đề cập đến người, cơ quan, tổ chức, hệ thống chịu trách nhiệm các khoản chi phí của hàng hóa, dịch vụ, hoạt động (Ai phải chi trả?).

Phân tích chi phí được thực hiện trên các quan điểm khác nhau, quan điểm chi phí của người bệnh còn gọi là người sử dụng dịch vụ y tế và quan điểm của người cung cấp dịch vụ y tế, bệnh viện/chương trình y tế và khi cơ sở cung cấp dịch vụ thuộc hệ thống y tế công thì gọi là quan điểm của hệ thống y tế. Mục đích của đánh giá kinh tế là xem xét tất cả các loại chi phí nảy sinh cho cá nhân và xã hội do bị mắc bệnh. Quan điểm chi phí có vai trò rất quan trọng trong tính chi phí. Quan điểm chi phí sẽ là cơ sở cho việc đưa loại chi phí nào vào tính toán.

- Quan điểm từ người bệnh: Những chi phí được xem xét đến dựa trên quan điểm của người bệnh được gọi là chi phí cá nhân hay những chi phí do người bệnh phải gánh chịu. Những chi phí này gồm những chi tiêu từ túi người bệnh và gia đình của họ cho điều trị bệnh.
- Quan điểm của người cung cấp dịch vụ y tế: Phân tích này thường tập trung vào chi phí nảy sinh cho các cơ sở y tế nhà nước trong cung cấp các dịch vụ điều trị bệnh.
- Quan điểm xã hội: Một phân tích dựa trên quan điểm xã hội, sẽ xem xét đến chi phí nảy sinh cho cả phía cơ sở cung cấp dịch vụ và người bệnh, người sử dụng dịch vụ y tế [6], [26] .

1.6. Giới thiệu địa điểm nghiên cứu:

Nguồn thông tin: Cổng thông tin điện tử Bộ Kế hoạch&Đầu tư

1.6.1. Tỉnh Sơn La

Sơn La là tỉnh miền núi, nằm ở phía Tây Bắc. Phía Bắc giáp tỉnh Yên Bái, Lào Cai; phía Đông giáp tỉnh Lai Châu; phía Nam giáp tỉnh Thanh Hoá và nước bạn Lào; cách thủ đô Hà Nội 320 km về phía Tây Bắc.

Diện tích tự nhiên toàn tỉnh là 14.055 km², chiếm 4,27% diện tích cả nước.

Son La có khí hậu nhiệt đới gió mùa, mùa đông lạnh khô, mùa hè nóng ẩm mưa nhiều, mưa tập trung vào các tháng 7 và 8, lượng mưa trung bình hàng năm là 1.276 mm. Nhiệt độ trung bình là 24,02⁰C; hàng năm có 6 tháng có nhiệt độ trung bình 24,02⁰C. Địa hình tỉnh Sơn La chia cắt sâu và mạnh, vùng núi chiếm trên 85% diện tích tự nhiên toàn tỉnh, có 2 cao nguyên Mộc Châu và cao nguyên Nà Sản. Độ cao trung bình 600 - 700 m so với mặt biển.

Theo kết quả điều tra dân số ngày 1/4/2009, tỉnh Sơn La có 1.080.641 người. Trong đó, số lao động trên địa bàn tỉnh là 407.246 người, chiếm 46,1% dân số. Tỉnh Sơn La có 12 dân tộc là chủ yếu. Đông nhất là dân tộc Thái có 482.985 người, chiếm 54,7%, dân tộc Kinh có 153.646 người, chiếm 17,42%, dân tộc Mông có 114.578 người, chiếm 13%, dân tộc Mường có 71.906 người, chiếm 8,15% và các dân tộc khác chiếm 6,73%.

Son La có 12 Trung tâm y tế huyện, thành phố, 18 đơn vị khám chữa bệnh gồm 8 bệnh viện đa khoa và chuyên khoa tuyến tỉnh, 10 bệnh viện đa khoa tuyến huyện, 204/204 xã/phường, thị trấn có trạm y tế hoạt động trong hệ thống giám sát và phòng chống các bệnh truyền nhiễm.

1.6.2. Tỉnh Điện Biên

Điện Biên là tỉnh miền núi biên giới thuộc vùng Tây Bắc, cách thủ đô Hà Nội gần 500 km về phía Tây; phía Bắc giáp tỉnh Lai Châu, phía Đông và Đông Bắc giáp tỉnh Sơn La, phía Tây Bắc giáp tỉnh Vân Nam – Trung Quốc; phía Tây và Tây Nam giáp với nước Cộng hòa Dân chủ Nhân dân Lào.

Tổng diện tích tự nhiên toàn tỉnh hiện nay là 9.554,097 km². Điện Biên có khí hậu nhiệt đới gió mùa núi cao, mùa hạ nóng, mưa nhiều với các đặc tính diễn biến bất thường. Nhiệt độ trung bình hàng năm từ 21 – 23⁰C, lượng mưa trung bình từ 1.700 – 2.500 mm, độ ẩm trung bình từ 83 – 85%.

Điện Biên có địa hình phức tạp, được cấu tạo bởi những dãy núi chạy dài theo hướng Tây dọc biên giới Việt – Lào với đỉnh Pu Đen Đinh cao 1.886m. Xen lẫn với

các dãy núi cao là những thung lũng, sông suối nhỏ hẹp và dốc phân bố khắp nơi trong địa bàn tỉnh.

Điện Biên có 21 dân tộc sinh sống với tổng dân số là 491.046 người (điều tra dân số ngày 01/04/2009), chủ yếu là người Thái (chiếm 38%), tiếp đó là H'Mông (30%) và Kinh (20%) dân tộc Khơ Mú 3,3%, còn lại là các dân tộc khác như Dao, Hà Nhì, Hoa, Kháng...

Điện Biên có 10 Trung tâm y tế huyện, thành phố, 5 bệnh viện đa khoa và chuyên khoa tuyến tỉnh, 10 Trung tâm y tế tuyến huyện, 130 xã/phường, thị trấn có trạm y tế hoạt động trong hệ thống giám sát và phòng chống các bệnh truyền nhiễm.

1.6.3. Tỉnh Lào Cai

Lào Cai là một tỉnh miền núi nằm ở phía Bắc Việt Nam, cách Hà Nội 296 km. Tỉnh có 203,5 km đường biên giới với tỉnh Vân Nam - Trung Quốc. Phía Bắc tỉnh Lào Cai giáp tỉnh Vân Nam - Trung Quốc; phía Nam giáp tỉnh Yên Bái; phía Đông giáp tỉnh Hà Giang; phía Tây giáp tỉnh Sơn La và Lai Châu.

Địa hình tỉnh Lào Cai đặc trưng là núi cao xen kẽ với đồi núi thấp.

Lào Cai có khí hậu nhiệt đới gió mùa rõ rệt. Nhiệt độ trung bình hàng năm thường từ 22 – 24°C; độ ẩm trung bình năm trên 80%, cao nhất là 90% và thấp nhất 75%. Lượng mưa trung bình năm trên 1.700 mm, năm cao nhất ở Sa Pa là 3.400 mm, năm thấp nhất ở thị xã Lào Cai 1.320 mm.

Lào Cai có 9 đơn vị hành chính cấp huyện trực thuộc, bao gồm 1 thành phố, 1 thị xã và 7 huyện với 152 đơn vị hành chính cấp xã, bao gồm 16 phường, 9 thị trấn và 127 xã. Dân số tính đến ngày 1/4/2019 của toàn tỉnh đạt 730.420 người, dân số thành thị 171.401 người, chiếm 23,5%. Dân tộc Kinh có 246.756 người, chiếm 33,8%, còn lại các dân tộc khác có 483.664 người, chiếm 66,2% dân số toàn tỉnh.

Lào cai có 9 Trung tâm y tế huyện, thành phố, 5 đơn vị khám chữa bệnh gồm bệnh viện đa khoa và chuyên khoa tuyến tỉnh, 8 bệnh viện đa khoa tuyến huyện, 152 xã/phường, thị trấn có trạm y tế hoạt động trong hệ thống giám sát và phòng chống các bệnh truyền nhiễm.

Chương 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mục tiêu 1: Mô tả thực trạng của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Người bệnh được chẩn đoán mắc VNVR nhập viện tại các cơ sở điều trị theo các tiêu chuẩn (Quyết định số 2322/QĐ-BYT ngày 30/6/2006, Hướng dẫn chẩn đoán và xử trí bệnh viêm não cấp do vi rút ở trẻ em) như sau:

- Sốt > 38⁰C;
- Rối loạn tri giác (nhầm lẫn, mất định hướng, không nói được, lơ mơ, hôn mê) và/hoặc rối loạn vận động (co giật, co cứng, cử động bất thường, liệt);
- Dịch não tủy trong, tăng tế bào bạch cầu trong dịch não tủy chủ yếu là tế bào lympho;
- Xét nghiệm máu bạch cầu không tăng hoặc tăng ít;
- Cần loại trừ các bệnh thần kinh sau đây:
 - o Co giật do sốt cao;
 - o Viêm màng não mủ;
 - o Viêm màng não do lao;
 - o Ngộ độc cấp;
 - o Sốt rét thể não;
 - o Chảy máu não-màng não;
 - o Động kinh.

2.1.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Người bệnh VNVR theo đúng tiêu chuẩn ca bệnh được giám sát và thu thập tại các bệnh viện đa khoa tuyến tỉnh và bệnh viện đa khoa tuyến huyện của 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai trong thời gian từ tháng 1/2017 – tháng 12/2018. Cụ thể các điểm giám sát bao gồm 4 bệnh viện tuyến tỉnh và 31 bệnh viện đa khoa huyện/thành phố (chi tiết tại Phụ lục 4).

2.1.3. Thiết kế nghiên cứu

Sử dụng thiết kế nghiên cứu mô tả hàng loạt ca bệnh.

2.1.4. Cỡ mẫu

Sử dụng phương pháp chọn mẫu toàn bộ. Tất cả các ca đáp ứng tiêu chuẩn ca bệnh đều được đưa vào nghiên cứu.

Qua khảo sát số liệu giám sát Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai trong 5 năm trở lại đây, tổng số ca mắc VNVR trung bình của 3 tỉnh khoảng 150 ca/năm. Do đó, ước lượng cỡ mẫu khoảng $150 \text{ ca/năm} \times 2 \text{ năm} = 300 \text{ ca}$. Thực tế ghi nhận 473 ca VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc giai đoạn 2017-2018 (danh sách đối tượng nghiên cứu đã được mã hoá trong Phụ lục 1).

2.1.5. Phương pháp và công cụ thu thập thông tin

Các điểm giám sát VNVR tại bệnh viện đa khoa tỉnh và các bệnh viện đa khoa huyện/thành phố thuộc 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai (tại các khoa Truyền nhiễm, Hồi sức cấp cứu, Thần kinh) được thiết lập. Các cán bộ tham gia nghiên cứu của bệnh viện được tập huấn kỹ để tiến hành điều tra và thu thập thông tin ca bệnh theo phiếu điều tra được thiết kế sẵn (Phụ lục 3). Khi có người bệnh phù hợp với tiêu chuẩn ca bệnh sẽ thực hiện các bước sau:

- Bác sỹ điều trị chỉ định tuyển chọn người bệnh, giải thích cho người bệnh về nghiên cứu, mời người bệnh tham gia nghiên cứu;
- Cán bộ tham gia nghiên cứu được phân công tại các khoa sẽ tiến hành điều tra theo phiếu điều tra ca bệnh được thiết kế sẵn với các thông tin gồm đặc điểm nhân khẩu học, tiền sử sức khoẻ, triệu chứng lâm sàng, tiền sử tiêm chủng và các thông tin dịch tễ liên quan;
- Bác sỹ điều trị chỉ định cán bộ có chuyên môn phù hợp thực hiện việc lấy mẫu bệnh phẩm người bệnh gồm: 1 mẫu dịch não tủy, 1 mẫu huyết thanh và 1 mẫu phân;
- Mẫu bệnh phẩm sau đó được vận chuyển về Trung tâm Kiểm soát bệnh tật tỉnh để bảo quản và tiếp tục vận chuyển về Viện VSDTTU.

Chi tiết được trình bày tại Phụ lục 2, 4, 5.

2.1.6. Các biến số và chỉ số nghiên cứu

| Biến số nghiên cứu | Định nghĩa/chỉ số | Phương pháp |
|--|---|--------------------|
| Thông tin chung ca mắc/chết do VNVR | | |
| Tuổi | Tuổi tính theo năm của đối tượng | PV |
| Giới tính | - Nam - Nữ | PV |
| Nghề nghiệp | Nghề nghiệp của đối tượng | PV |
| Dân tộc | Đối tượng thuộc dân tộc nào | PV |
| Địa chỉ | Địa chỉ của đối tượng (khu/tổ dân phố/bản; xã/phường; quận/huyện) | PV |
| Thông tin phơi nhiễm | | |
| Khu vực sống | - Đồng bằng - Trung du - Vùng đồi - Vùng núi | PV |
| Trình độ học vấn | - Chưa đi học - Tiểu học - THCS - THPT/Bỏ túc | PV |
| Tổng số thành viên trong gia đình | Số thành viên trong hộ gia đình của đối tượng | PV |
| Tổng số trẻ trong gia đình | Số trẻ dưới 5 tuổi trong hộ gia đình của đối tượng | PV |
| Tiêm phòng vắc xin VNNB | - Có - Không - Không rõ | PV |
| Số liều vắc xin | Số liều vắc xin VNNB đối tượng đã tiêm | PV |
| Nuôi lợn | - Có - Không | PV |
| Trồng cây ăn quả | - Có - Không | PV |

2.2. Mục tiêu 2: Xác định một số tác nhân vi rút gây viêm não và sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

2.2.1. Xác định một số tác nhân vi rút gây viêm não

2.2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Các mẫu bệnh phẩm thu được của người mắc VNVR ở Mục tiêu 1 bao gồm:

- Dịch não tủy;
- Huyết thanh;
- Mẫu phân.

2.2.1.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Các xét nghiệm được thực hiện tại 3 phòng thí nghiệm chuẩn thức của Viện VSDTTU gồm: Phòng thí nghiệm vi rút arbo, Phòng thí nghiệm vi rút đường ruột và Phòng thí nghiệm vi rút Herpes trong thời gian từ tháng 1/2017 đến tháng 6/2019.

2.2.1.3 Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả kết hợp phân tích phòng thí nghiệm.

2.2.1.4 Cỡ mẫu

Sử dụng toàn bộ mẫu bệnh phẩm thu thập được từ Mục tiêu 1.

2.2.1.5 Phương pháp và công cụ thu thập thông tin

Thu thập bệnh phẩm

Các ca VNVR điều trị tại bệnh viện đa khoa tỉnh, huyện của 3 tỉnh nghiên cứu đáp ứng các tiêu chuẩn lựa chọn và chấp thuận tham gia nghiên cứu được thu thập 3 loại mẫu: dịch não tủy, huyết thanh và mẫu phân. Cụ thể như sau:

- Dịch não tủy: 2 ml với người bệnh trên 1 tuổi và 1 ml với trẻ dưới 1 tuổi tại thời điểm nhập viện hoặc trong vòng 5 ngày từ khi khởi phát;
- Huyết thanh: 5 ml máu tĩnh mạch để tách huyết thanh với người bệnh trên 1 tuổi và 3 ml với trẻ dưới 1 tuổi tại thời điểm 7 ngày sau nhập viện hoặc trước khi ra viện;
- Phân: 1 ống, tương đương 5 – 10 gam tại thời điểm nhập viện hoặc trong vòng 5 ngày từ khi khởi phát.

Các mẫu bệnh phẩm sau khi lấy được bảo quản ở 2-8°C trong vòng 24 - 48 giờ tại cơ sở lấy mẫu. Mẫu được chuyển về Trung tâm Y tế dự phòng/Kiểm soát bệnh tật tỉnh và bảo quản ở -20°C trong vòng 2 tuần (mẫu máu được tách huyết thanh trước khi bảo quản ở -20°C). Trung tâm Y tế dự phòng/Kiểm soát bệnh tật tỉnh vận chuyển các mẫu bệnh phẩm về Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương để xét nghiệm.

Mẫu máu và dịch não tủy sử dụng cho phát hiện các tác nhân gây Viêm não vi rút arbo (Dengue, VNNB) nhóm vi rút Herpes (HSV, hCMV), mẫu phân sử dụng cho phát hiện tác nhân vi rút đường ruột gây viêm não.

Phương pháp xét nghiệm

Xét nghiệm huyết thanh học: Sử dụng kỹ thuật ELISA xét nghiệm phát hiện kháng thể IgM kháng một số tác nhân gây bệnh: VNNB, Dengue.

Xét nghiệm sinh học phân tử:

- Sử dụng kỹ thuật Realtime PCR đơn mồi đối với mẫu bệnh phẩm dịch não tủy, để xác định một số tác nhân chính gây ra Viêm não vi rút: Dengue, VNNB, VRĐR (EV71, ECHO, Coxsackie A), HSV (gồm cả HSV-1 và HSV-2), hCMV.
- Sử dụng kỹ thuật Multiplex PCR đối với mẫu phân để xác định một số tác nhân chính gây Viêm não do vi rút đường ruột như EV71, và Coxsackie A6, A10, A16.
- Sử dụng kỹ thuật snRT-PCR/Sequencing để xác định tác nhân gây viêm não do vi rút ECHO.

2.2.1.6. Tóm tắt các Quy trình xét nghiệm của Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương áp dụng trong nghiên cứu này (chi tiết tại Phụ lục 5 và 6):

2.2.1.6.1. Tóm tắt Quy trình lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm nhiễm Viêm não vi rút

Tiêu chuẩn lựa chọn người bệnh giám sát

- Sốt > 38°C (trong vòng 72 giờ trước hoặc sau khi khởi phát) và một hoặc những triệu chứng sau:

- + Rối loạn tri giác (bao gồm các dấu hiệu như nhắm lẩn, mất phương hướng, hôn mê hoặc khả năng nói bị thay đổi)

- + Rối loạn vận động (co giật, co cứng, cử động bất thường, liệt)
- Chẩn đoán lâm sàng hướng tới nguyên nhân Viêm não vi rút.

Các loại bệnh phẩm

| Stt | Loại bệnh phẩm | Thời điểm lấy mẫu | Đối tượng trên 1 tuổi | Trẻ em dưới 1 tuổi |
|------------|-----------------------|---|------------------------------|---------------------------|
| 1 | Dịch não tủy | Lúc nhập viện (hoặc trong vòng 5 ngày từ khi xuất hiện triệu chứng lâm sàng) | 2 ml | 1 ml |
| 2 | Mẫu phân | | 2 gam | 2 gam |
| 3 | Mẫu máu | 7 ngày sau nhập viện hoặc trước khi ra viện | 5 ml | 3 ml |

Nguyên vật liệu và trang thiết bị

- Túi/hộp cho đóng gói ống bệnh phẩm;
- Băng, gạc có tẩm chất sát trùng;
- Găng tay, khẩu trang y tế;
- Bình lạnh bảo quản mẫu, túi lạnh giữ nhiệt;
- Cồn sát trùng, bút ghi...
- Biểu mẫu điền thông tin người bệnh (phiếu yêu cầu xét nghiệm và phiếu điều tra dịch tễ).

Dụng cụ lấy mẫu dịch não tủy

- Kim chuyên dùng chọc dịch não tủy;
- Ống đựng mẫu 2 ml.

Dụng cụ lấy mẫu máu

- Dây garo;
- Ống đựng máu vô trùng (không có chất chống đông) và bơm kim tiêm vô trùng 5ml.

Dụng cụ lấy mẫu phân

- Lọ đựng phân có nắp đậy chặt, miệng rộng;
- Ống thông trực tràng (khi cần thiết).

Các bước tiến hành

Thu thập bệnh phẩm

Chuẩn bị trước khi lấy mẫu:

- Giải thích cho người bệnh hoặc người nhà người bệnh về mục đích của việc lấy mẫu xét nghiệm;
- Ghi đầy đủ thông tin của người bệnh trên phiếu yêu cầu xét nghiệm và phiếu điều tra dịch tễ;
- Chuẩn bị đầy đủ dụng cụ thu thập bệnh phẩm theo loại bệnh phẩm và ghi thông tin nhận dạng ống đựng bệnh phẩm gồm: họ tên người bệnh hoặc mã người bệnh, tuổi và ngày lấy mẫu;
- Sử dụng đầy đủ trang bị bảo hộ cá nhân.

Bệnh phẩm dịch não tủy

- Thời gian lấy mẫu: lúc nhập viện hoặc trong vòng 1-5 ngày kể từ khi xuất hiện các triệu chứng lâm sàng;
- Lấy mẫu sẽ được bác sĩ chỉ định và thực hiện theo thường quy của đơn vị lấy mẫu, PTN chỉ nhận mẫu và xét nghiệm theo yêu cầu;
- Số lượng mẫu dịch não tủy: 2 ml đối với người bệnh trên 1 tuổi và 1ml với trẻ em dưới 1 tuổi;
- Chuyển mẫu vào tuýp chứa có ghi sẵn thông tin người bệnh, vặn chặt nắp tuýp.

Bệnh phẩm máu

- Thời gian lấy mẫu: 7 ngày kể từ khi xuất hiện các triệu chứng lâm sàng hoặc trước khi người bệnh ra viện;
- Sử dụng bơm kim tiêm vô trùng lấy 5 ml máu tĩnh mạch với người bệnh trên 1 tuổi và lấy 3 ml máu tĩnh mạch đối với trẻ em dưới 1 tuổi;
- Chuyển mẫu vào ống lấy máu có ghi sẵn thông tin người bệnh.

Bệnh phẩm phân

- Cho người bệnh đi đại tiện vào xô sạch:
 - + Nếu phân đặc: lấy cục phân bằng đầu ngón tay cái người lớn bằng thìa đã găng sẵn ở nắp tuýp;

- + Nếu phân lỏng: lấy dung dịch phân bằng ống hút sạch (hoặc bằng bơm tiêm) với thể tích và khối lượng theo yêu cầu.
- Chuyển mẫu phân vào tuýp đã ghi sẵn thông tin người bệnh;
- Vặn chặt nắp tuýp để tránh rò rỉ.

Bảo quản bệnh phẩm

Các mẫu bệnh phẩm sau khi lấy được bảo quản 2-8°C trong vòng 24 - 48 giờ tại cơ sở lấy mẫu, mẫu được chuyển về TTYTDP tỉnh và bảo quản -20°C trong vòng 2 tuần (chú ý: mẫu máu phải tách huyết thanh trước khi bảo quản -20°C). TTYTDP tỉnh sẽ đóng gói và vận chuyển các mẫu bệnh phẩm về phòng thí nghiệm Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương để làm các xét nghiệm.

Không cất bệnh phẩm tại ngăn đá tủ lạnh thường vì có thể phá huỷ virút.

2.2.1.6.2. Quy trình phát hiện kháng thể IgM kháng vi rút Viêm não Nhật Bản bằng phương pháp ELISA

Nguyên lý

- Kháng thể IgM trong mẫu lâm sàng (huyết thanh, dịch não tủy) của người bệnh bị tóm bắt bởi kháng thể kháng IgM được phủ trên bề mặt giếng của phiến 96 giếng. Kháng thể IgM kháng JEV trong mẫu lâm sàng (nếu có) sẽ kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên tái tổ hợp JERA có nguồn gốc từ JEV. Phức hợp này sẽ liên kết đặc hiệu với kháng thể kháng JERA có gắn men peroxydase (cộng hợp) và được nhận biết dưới tác dụng của chất tạo màu TMB (tetramethylbenzidine) và tác nhân oxy hoá.

Nguyên vật liệu và trang thiết bị

Hóa chất và sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm sử dụng trong kỹ thuật ELISA được bảo quản ở 2-8°C theo khuyến cáo của nhà sản xuất để đảm bảo tính ổn định của hóa chất/sinh phẩm;

Dụng cụ tiêu hao và trang thiết bị

- Khi sử dụng sẽ được ghi chép thông tin trong biểu mẫu phiếu theo dõi vật tư mã số: VR-5.3-QTQL.02-BM04_1.15;

Sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm JE Detect™ IgM antibody capture ELISA (MAC-ELISA) của công ty Inbios International, Mỹ.

Trang thiết bị

- Pipet: Xem VR-5.3-01.HDTB.11_1.15;
- Máy lắc: VR-5.3-01.HDTB.05_1.15;
- Máy rửa phiên ELISA;
- Bể ủ nhiệt khô 37°C;
- Tủ an toàn: VR-5.3-01.HDTB.01_1.15;
- Tủ lạnh: VR-5.3-01.HDTB.12_1.15.

Quy trình xét nghiệm: bao gồm 17 bước (chi tiết tại phụ lục 6)

Đọc kết quả

| ISR | Kết quả | Kết luận |
|-----------|------------|---|
| <4,0 | Âm tính | Không phát hiện kháng thể IgM kháng JEV bằng kỹ thuật |
| 4,0 – 6,0 | Nghi ngờ | Cần thực hiện lại xét nghiệm. Nếu kết quả xét nghiệm lại vẫn nghi ngờ, kết luận mẫu âm tính |
| >6,0 | Dương tính | Phát hiện kháng thể IgM kháng JEV trong mẫu xét nghiệm |

2.2.1.6.3. Quy trình ELISA phát hiện kháng thể IgM kháng vi rút Dengue

Nguyên lý

Kháng thể IgM trong mẫu lâm sàng (huyết thanh, huyết tương) của người bệnh bị tóm bắt bởi kháng thể kháng IgM của người được phủ trên bề mặt giếng của phiên 96 giếng. Các immunoglobulin không bám đặc hiệu vào kháng thể kháng IgM sẽ bị rửa trôi. Kháng nguyên DENV cộng hợp peroxidase sẽ liên kết đặc hiệu với kháng thể IgM đã bị tóm bắt. Phức hợp này được nhận biết dưới tác dụng của chất tạo màu TMB (tetramethylbenzidine) và tác nhân oxy hoá (H₂O₂).

Mẫu bệnh phẩm:

- Mẫu huyết thanh, huyết tương.

Hóa chất và sinh phẩm

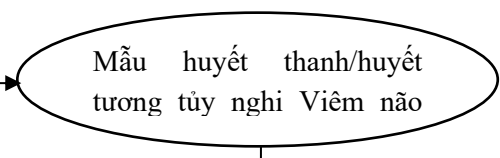
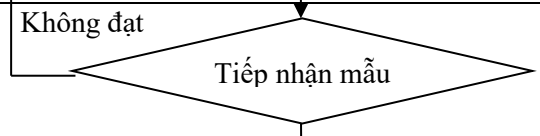
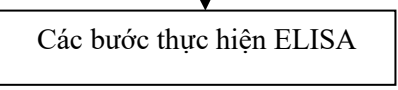
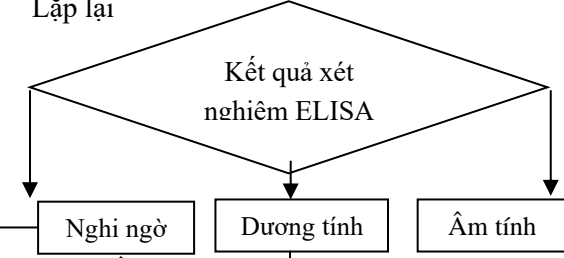
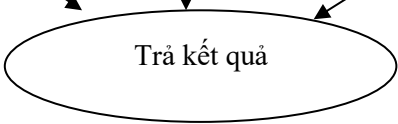
- Bộ sinh phẩm Dengue Elisa IgM capture (Vircell, Tây Ban Nha)

Trang thiết bị

Chỉ sử dụng các trang thiết bị được đóng dấu ISO:

- Pipet: Quy trình NV05-VR-QT5.3.11;
- Máy lắc: Quy trình NV05-VR-QT5.3.06;
- Lò sấy: Quy trình NV05-VR-QT5.3.09;
- Máy ly tâm: Quy trình NV05-VR-QT5.3.10;
- Tủ an toàn: Quy trình NV05-VR-QT5.3.01;
- Tủ lạnh: Quy trình NV05-VR-QT5.3.15;
- Máy đọc phiên vi lượng: Quy trình NV05-VR-QT5.3.04;
- Máy rửa phiên vi lượng: Quy trình NV05-VR-QT5.3.13;
- Máy ủ phiên vi lượng: Quy trình NV05-VR-QT5.3.16.

Lưu đồ xét nghiệm

| Bước | Trách nhiệm | Trình tự thực hiện | Tài liệu |
|------|---|--|--------------------|
| 1 | Khách hàng |  | NV05-VR-STLM |
| 2 | Khách hàng Nhân viên PXN |  | NV05-VR-QT5.1.01 |
| 3 | Nhân viên PXN |  | NV05-VR01-QT5.5.01 |
| 4 | Nhân viên PXN |  | NV05-VR01-QT5.5.01 |
| 5 | Nhân viên PXN, Trưởng phòng xét nghiệm, Lãnh đạo Viện |  | NV05-QT5.8.01 |

Quy trình xét nghiệm

Chuẩn bị sinh phẩm

- Pha nước rửa: thêm 950 ml nước cất 2 lần vào 50 ml dung dịch nước rửa
- Chuẩn bị số giếng để xét nghiệm (1 mẫu/giếng + 1 giếng cho chứng âm + 2 giếng cho Cut off + 1 giếng cho chứng dương + 1 giếng cho IHC);
- Chuẩn bị hỗn dịch kháng nguyên- cộng hợp
- Cài đặt máy ủ ở 37°C.

Thực hiện xét nghiệm

- Pha loãng mẫu 1/20: 5 µl mẫu + 95 µl dung dịch pha loãng mẫu;
- Thêm 80 µl dung dịch pha loãng mẫu vào tất cả các giếng (trừ giếng neg, cal, pos);
- Thêm 20 µl dung dịch mẫu đã pha loãng 1/20 vào tất cả các giếng;
- Thêm 100 µl chứng âm, 100 µl cut off, 100 µl chứng dương vào các giếng;
- Phủ miếng dán lên các miệng giếng để tránh bay hơi trong quá trình ủ. Ủ phiên ở máy ủ phiên 37°C trong 60 phút ± 1 phút
- Thêm 100 µl hỗn hợp kháng nguyên- cộng hợp vào tất cả các giếng;
- Phủ miếng dán lên các miệng giếng để tránh bay hơi trong quá trình ủ. Ủ phiên ở máy ủ phiên 37°C trong 60 phút ± 1 phút. Rửa phiên 5 lần;
- Thêm 100 µl dung dịch cơ chất vào các giếng. Ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút;
- Thêm 50 µl dung dịch dừng phản ứng vào các giếng;
- Đọc phiên ở bước sóng 450/620 nm 1 giờ sau khi thêm dung dịch dừng phản ứng.

Đọc kết quả:

Tính giá trị trung bình của Cut off (MeanCO)

Chỉ số kháng thể = (ODmẫu/ODmeanCO) x 10

| Chỉ số kháng thể | Kết luận | |
|------------------|------------|--------------------|
| <9 | Âm tính | |
| 9-11 | Nghi ngờ | Lặp lại xét nghiệm |
| >11 | Dương tính | |

2.2.1.6.4. Quy trình chẩn đoán nhiễm vi rút Dengue bằng REALTIME RT-PCR

Nguyên lý

- Quy trình xét nghiệm vi rút Dengue dựa trên xét nghiệm phát hiện vật liệu di truyền bằng phản ứng chuỗi polymerase thời gian thực (realtime RT-PCR);
- Khác với RT-PCR thông thường, phương pháp realtime RT-PCR sử dụng thêm bộ mẫu dò phát huỳnh quang (probe) có khả năng phát hiện sản phẩm (vật liệu di truyền của vi rút) trong quá trình tổng hợp sản phẩm;
- Mẫu dò là một đoạn oliognucleotit (ví dụ: Taqman[®] probe) được gắn với một chất nhuộm phát tín hiệu huỳnh quang ở đầu 5' (R), đầu kia gắn với thuốc nhuộm ức chế phát huỳnh quang (Q). Khi mẫu dò còn nguyên vẹn, Q có vai trò nhận năng lượng phát ra từ R (hiệu ứng chuyển năng lượng huỳnh quang). Nếu có trình tự đích, mẫu dò và mồi sẽ gắn vào khuôn, quá trình tổng hợp bắt đầu. Trong quá trình tổng hợp, enzym Taq DNA polymerase với hoạt tính exonuclease sẽ cắt các nucleotid của mẫu dò từ đầu 5', giải phóng R khỏi Q, làm tăng tín hiệu huỳnh quang của R. Càng nhiều sản phẩm tạo thành thì càng nhiều mẫu dò bị phân cắt và tín hiệu của R phát ra càng nhiều. Mắt đọc tín hiệu huỳnh quang của máy sẽ thu tín hiệu R, xử lý bằng phần mềm và đưa ra kết quả cuối cùng.

Mẫu bệnh phẩm:

- Dịch tách chiết ARN từ mẫu máu toàn phần/huyết tương/huyết thanh theo quy trình tách chiết ARN (NV05-VR-QT5.5.02).

Hóa chất và sinh phẩm

- SuperScripTMIII Platium One-Step: sinh phẩm trong phản ứng realtime RT-PCR
 - + SuperScriptTMIII RT/Platinum Taq Mix (100ul);
 - + 2x Reaction mix (chứa 0.4uM mỗi loại dNTP và 6mM MgSO₄);
 - + 50mM MgSO₄ (1ml);
 - + ROX Reference Dye (100ul).

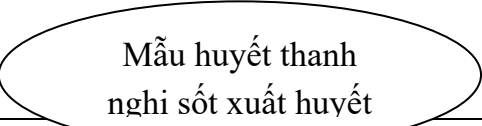
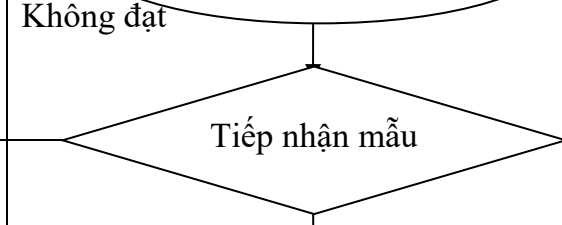
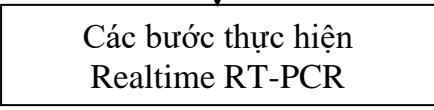
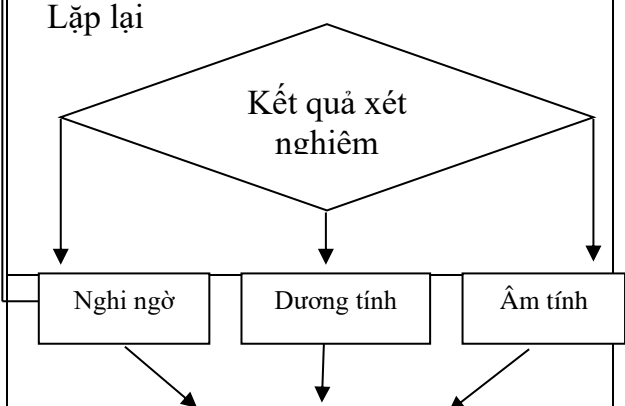
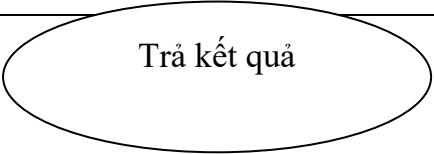
- Bộ môi cho phản ứng real-time RT-PCR:

| Môi và probe | | Tín hiệu huỳnh quang | Trình tự (5'-3') | Chất ức chế phát huỳnh quang | Nồng độ |
|--------------|-------|----------------------|---------------------------------|------------------------------|---------|
| D1 | D1F | | CAA AAG GAA GTC GYG CAA TA | | 100uM |
| | D1C | | CTG AGT GAA TTC TCT CTG CTR | | 100uM |
| | Probe | FAM | CAT GTG GYT GGG AGC RCG C | BHQ1 | 10uM |
| D2 | D2F | | CAG GCT ATG GCA CYG TCA CGA T | | 100uM |
| | D2C | | CCA TYT GCA GCA RCA CCA TCT C | | 100uM |
| | Probe | HEX | CTC YCC RAG AAC GGG CCT CGA | BHQ1 | 10uM |
| D3 | D3F | | GGA CTR GAC ACA CGC ACC CA | | 100uM |
| | D3C | | CAT GTC TCT ACC TTC TCG ACT TGY | | 100uM |
| | Probe | Texas | ACC TGG ATG TCG GCT GAA GGA | BHQ2 | 10uM |
| D4 | D4F | | TTG TCC TAA TGA TGC TRG TCG | | 100uM |
| | D4C | | TCC ACC YGA GAC TCC TTC CA | | 100uM |
| | Probe | Cy5 | TYC CTA CYC CTA CGC ATC GCA TTC | 3IAbRQSp | 10uM |

Trang thiết bị: Sử dụng các trang thiết bị được đóng dấu ISO

- Pipet: Quy trình NV05-VR-QT5.3.11
- Máy lắc: Quy trình NV05-VR-QT5.3.06
- Lò sấy: Quy trình NV05-VR-QT5.3.09
- Cân: Quy trình NV05-VR-QT5.3.03
- Máy luân nhiệt thời gian thực: Quy trình NV05-VR-QT5.3.08
- Máy ly tâm: Quy trình NV05-VR-QT5.3.10
- Tủ an toàn: Quy trình NV05-VR-QT5.3.01
- Tủ lạnh: Quy trình NV05-VR-QT5.3.15

Lưu đồ xét nghiệm

| Bước | Trách nhiệm | Trình tự thực hiện | Tài liệu |
|------|---|--|----------------------------|
| 1 | Khách hàng |  | NV05-VR-STLM |
| 2 | Khách hàng Nhân viên PXN |  | NV05-VR- QT5.1.01 |
| 3 | Nhân viên PXN |  | NV05- VR01- QT5.5.03 |
| 4 | Nhân viên PXN |  | NV05- VR01- QT5.5.03 |
| 5 | Nhân viên PXN, Trưởng phòng xét nghiệm, Lãnh đạo Viện |  | NV05- QT5.8.01 |

Quy trình xét nghiệm**Pha sinh phẩm cho phản ứng Realtime-RT-PCR**

- Kỹ thuật viên ghi lại thông tin khi thực hiện pha chế vào biểu mẫu “Pha hỗn dịch phản ứng realtime RT-PCR Dengue” mã số NV05-VR01-QT5.5.01-BM.02

| Sinh phẩm | | Nồng độ | Thể tích (ul)/1 pư | Số lượng phản ứng (N) | |
|------------------------------------|----|---------|-----------------------|--------------------------|---------|
| Nước cất tinh sạch | | | 3,7 | | |
| 2x Reaction mix | | | 12,5 | 12,5xN | |
| Superscript III RT/Platium Taq Mix | | | 0,5 | 0,5xN | |
| Probe và cặp mồi | D1 | D1 F | 100uM | 0,25 | 0,25xN |
| | | D1C | | 0,25 | 0,25xN |
| | | Probe | 10uM | 0,45 | 0,45xN |
| | D2 | D2 F | 100uM | 0,125 | 0,125xN |
| | | D2 C | | 0,125 | 0,125xN |
| | | Probe | 10uM | 0,45 | 0,45xN |
| | D3 | D3 F | 100uM | 0,25 | 0,25xN |
| | | D3 C | | 0,25 | 0,25xN |
| | | Probe | 10uM | 0,45 | 0,45xN |
| | D4 | D4 F | 100uM | 0,125 | 0,125xN |
| | | D4C | | 0,125 | 0,125xN |
| | | Probe | 10uM | 0,45 | 0,25xN |
| ARN mẫu | | | 5 | | |
| Tổng số | | | 25 | | |

Cài đặt thiết bị

- Cài đặt chương trình cho máy Realtime PCR;
- Hướng dẫn cài đặt thiết bị xem NV05-VR-QT5.3.08.

| | Nhiệt độ (°C) | Thời gian | Chu kỳ lặp | Tên chương trình |
|-------------------|---------------------------------|-------------|------------|------------------|
| <i>Dengue 1-4</i> | 50 | 30:00 | x 1 | Den 1-4.CDC |
| | 95 | 2:00 | | |
| | 95 | 0:10 | } x 45 | |
| | 60 | 0:30 | | |
| | Thu tín hiệu huỳnh quang | | | |
| | 10 | ∞ | | |

Tra mẫu và chạy máy

- Cho 5µl mẫu RNA bệnh phẩm vào tube chứa hỗn hợp phản ứng realtime RT-PCR, ly tâm nhanh và giữ trong giá tích lạnh;
- Đặt các tuýp vào máy, khởi động chương trình theo yêu cầu xét nghiệm. Tạo tên tệp và lưu giữ dữ liệu. (NV05-VR-QT5.3.08);
- Ghi chép mã thiết bị sử dụng, ngày sử dụng vào (NV05-VR-QT5.3.03-BM02).

Đọc kết quả

- Kết quả đọc được khi:
 - + Chứng âm: không có tín hiệu huỳnh quang;
 - + Chứng âm tách chiết: không có tín hiệu huỳnh quang.
- Mẫu dương tính: tín hiệu huỳnh quang được thu nhận trước hoặc tại chu kỳ thứ 38 của phản ứng;
- Mẫu âm tính: tín hiệu huỳnh quang được thu nhận sau chu kỳ thứ 38;
- Nếu trong trường hợp phương pháp Realtime RT - PCR cho kết quả không rõ thì mẫu bệnh phẩm này sẽ được lặp lại từ bước tách chiết mẫu; hoặc PTN có thể yêu cầu lấy lại bệnh phẩm và xét nghiệm theo thường quy của phòng từ bước nhận bệnh phẩm.

2.2.1.6.5. Quy trình chẩn đoán HSV

- Sinh phẩm: Sinh phẩm tách chiết ADN là Qiagen (Đức), sinh phẩm cho phản ứng khuếch đại gen là Applied Biosystems.
- Trang thiết bị: Sử dụng máy ly tâm lạnh tốc độ cao của Hettich, máy khuếch đại gen AB Applied Biosystems 7500;
- Chứng dương được sản xuất theo trình tự chuẩn : từ PCR cổ điển, tạo dòng để có được plasmid tái tổ hợp, biến nạp vào hệ thống E.coli, tách chiết plasmid và tính toán cụ thể dựa vào cấu trúc ADN để có được chính xác số lượng bản sao ADN HSV trong một đơn vị thể tích khuôn mẫu phản ứng.

Tách chiết ADN vi rút gồm 13 bước (chi tiết tại phụ lục 6)

Quy trình real-time PCR:

Bước 1. Pha hỗn dịch phản ứng (mix) và cho mẫu dưới hốt sinh học phân tử :

| Thành phần | N=1 (µl) | N=... |
|------------------|-----------|-------|
| Master mix x 2 | 12,5 | |
| Mỗi xuôi | 1 | |
| Mỗi ngược | 1 | |
| Đầu dò | 0,5 | |
| H ₂ O | 5 | |
| Khuôn mẫu | 5 | |
| Tổng số | 25 | |

Bước 2. Chia hỗn dịch phản ứng vào các ống phản ứng

- Cho vào mỗi ống phản ứng 20 µl;
- Cho mẫu và chúng;
- Chuyển các ống mẫu sang buồng chạy máy (Real-time).

Bước 3. Chạy máy

- Chọn chương trình *HSV*;
- Cho mẫu vào máy;
- Nhấn vào “*Start*” để chương trình bắt đầu chạy;
- Lưu thông tin trên máy.

2.2.1.6.6. Quy trình xét nghiệm chẩn đoán vi rút đường ruột

Mẫu bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm bao gồm mẫu phân và dịch não tủy. Mẫu bệnh phẩm được xem là hợp lệ và được PTN VRĐR chấp nhận để làm các xét nghiệm chẩn đoán VRĐR khi có phiếu điều tra được điền đầy đủ thông tin đi kèm.

Xử lý mẫu bệnh phẩm

Mẫu phân: chuẩn bị hỗn dịch mẫu phân 20% trong môi trường PBS (+), xử lý cloroform trong 20 phút, ly tâm thu dịch nổi. Mẫu dịch não tủy: sử dụng trực tiếp không qua xử lý. Mẫu bệnh phẩm đã xử lý sẽ được bảo quản tại -20°C và -80°C cho

các thí nghiệm tiếp theo. Các giai đoạn thao tác với mẫu bệnh phẩm đều phải được thực hiện trong tủ ATSH cấp 2, phòng thí nghiệm ATSH cấp 2.

Tách chiết vật liệu di truyền RNA của vi rút

ARN của vi rút sẽ được tách chiết từ dịch nổi bệnh phẩm đã xử lý hoặc từ dịch não tủy, sử dụng bộ sinh phẩm tách chiết thương mại High Pure Viral RNA Kit (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA).

Xác định VRĐR chung, EV-A71, CV-A6, CV-A10 và CV-A16 bằng kỹ thuật RT-PCR đơn và đa mồi

Phương pháp này cho phép xác định VRĐR chung và định danh bốn kiểu VRĐR lưu hành nổi trội gây bệnh TCM gồm EV-A71, CV-A6, CV-A10 và CV-A16. Phản ứng RT-PCR sử dụng cặp mồi được thiết kế trên vùng gen không mã hóa 5'-UTR, đặc hiệu chung cho các VRĐR được sử dụng để xác định mẫu dương tính hoặc âm tính với VRĐR. Mẫu được xác định bốn tác nhân EV-A71, CV-A6, CV-A10 và CV-A16 bằng phản ứng RT-PCR đa mồi (multi-primer RT-PCR), gồm hai phản ứng riêng lẻ: (1) phản ứng RT-PCR thứ nhất sử dụng bộ mồi phát hiện vật liệu di truyền cho EV-A71 và CV-A6; (2) phản ứng thứ hai sử dụng bộ mồi phát hiện CV-A10 và CV-A16. Các cặp mồi đều được thiết kế trên vùng VP1, mang tính đặc hiệu cho từng kiểu vi rút.

Định danh các VRĐR khác bằng phương pháp snRT-PCR/sequencing

Các mẫu dương tính với VRĐR nhưng âm tính với EV-A71, CV-A6, CV-A10 và CV-A16 sẽ được tiếp tục định danh bằng phương pháp snRT-PCR/sequencing vùng gen VP1. VRĐR khác bao gồm: các vi rút Coxsackie nhóm A khác, vi rút Coxsackie B, vi rút ECHO và các VRĐR mới phát hiện... Quy trình xét nghiệm như sau: cDNA được tổng hợp sử dụng bộ mồi ngược đặc hiệu VRĐR, AN32-AN35. cDNA được sử dụng cho phản ứng PCR 1 với cặp mồi SO222/SO224 chung cho các VRĐR được thiết kế trên vùng VP1 tạo sản phẩm PCR khoảng 700 bp. Phản ứng PCR 2 sử dụng cặp mồi thiết kế bên trong vùng khuếch đại của PCR 1, cặp mồi AN88/AN89, tạo sản phẩm PCR dài khoảng 350 bp. Sản phẩm PCR được điện di để

xác định, sau đó được tinh sạch và thực hiện phản ứng PCR gắn huỳnh quang sử dụng một môi. Sản phẩm gắn huỳnh quang được tinh sạch khỏi chất nhuộm còn thừa và được giải trình tự chuỗi nucleotide bằng máy ABI 3100-Avant. Các trình tự quang phổ được lắp đặt bằng phần mềm Sequencer, và kết nối trình tự bằng chương trình Lasergene 8 (DNASTAR, Inc. Madison, WI, USA). Các trình tự gen thu được sẽ được định danh trên trang web phân tích tự động thiết kế cho vi rút đường ruột của RIVM (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/enterovirus/>).

Tóm tắt các loại mẫu bệnh phẩm và phương pháp xét nghiệm trong đề tài:

Bảng 2.1. Các loại mẫu bệnh phẩm, thời gian và số lượng, loại xét nghiệm phát hiện tác nhân gây bệnh

| Tt | Loại bệnh phẩm | Thời điểm lấy mẫu | Đối tượng trên 1 tuổi | Trẻ em dưới 1 tuổi | Phương pháp xét nghiệm | Tác nhân xét nghiệm |
|----|----------------|--|-----------------------|--------------------|------------------------|------------------------------|
| 1 | Dịch não tủy | Lúc nhập viện (hoặc trong vòng 5 ngày sau nhập viện) | 2 ml | 1 ml | Sinh học phân tử | VNNB, Dengue, HSV, CMV, VRĐR |
| 2 | Mẫu phân | | 1 ống | 1 ống | Sinh học phân tử | VRĐR |
| 3 | Mẫu máu | 7 ngày sau nhập viện hoặc trước khi ra viện | 5 ml | 3 ml | Huyết thanh học | VNNB, Dengue |

Tiêu chuẩn xác định ca bệnh dương tính:

Ca bệnh được xác định dương tính với tác nhân vi rút khi phát hiện được ít nhất một tác nhân vi rút trong ít nhất một trong ba loại mẫu bệnh phẩm thu thập được.

2.2.1.7. Các biến số và chỉ số nghiên cứu

| Biến số | Chỉ số nghiên cứu | Cách tính |
|------------------------|--|--|
| Các loại mẫu bệnh phẩm | Tỷ lệ các loại mẫu bệnh phẩm thu thập được | $\frac{\text{Số bệnh phẩm thu thập được}}{\text{Tổng số người bệnh}} \times 100\%$ |
| VNVR | Tỷ lệ xét nghiệm dương tính với tác nhân VNVR | $\frac{\text{Số mẫu dương tính}}{\text{Tổng số mẫu xét nghiệm}} \times 100\%$ |
| VNNB | Tỷ lệ xét nghiệm dương tính với vi rút VNNB | $\frac{\text{Số mẫu dương tính với vi rút VNNB}}{\text{Tổng số mẫu xét nghiệm}} \times 100\%$ |
| VR Dengue | Tỷ lệ xét nghiệm dương tính với vi rút Dengue | $\frac{\text{Số mẫu dương tính với vi rút Dengue}}{\text{Tổng số mẫu xét nghiệm}} \times 100\%$ |
| HSV | Tỷ lệ xét nghiệm dương tính với vi rút HSV | $\frac{\text{Số mẫu dương tính với vi rút HSV}}{\text{Tổng số mẫu xét nghiệm}} \times 100\%$ |
| CMV | Tỷ lệ xét nghiệm dương tính với vi rút CMV | $\frac{\text{Số mẫu dương tính với vi rút CMV}}{\text{Tổng số mẫu xét nghiệm}} \times 100\%$ |
| VRĐR | Tỷ lệ xét nghiệm dương tính với vi rút đường ruột | $\frac{\text{Số mẫu dương tính với VRĐR}}{\text{Tổng số mẫu xét nghiệm}} \times 100\%$ |
| Dịch não tủy | Tỷ lệ phân bố các tác nhân trong các mẫu dịch não tủy dương tính | $\frac{\text{Số mẫu dương tính với từng tác nhân}}{\text{Tổng số mẫu dịch não tủy dương tính}} \times 100\%$ |

2.2.2 Xác định sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại khu vực nghiên cứu

2.2.2.1 Đối tượng nghiên cứu

Muỗi và bọ gậy muỗi truyền vi rút VNNB.

2.2.2.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.2.2.2.1 Địa điểm: Nghiên cứu được thực hiện tại 12 xã thuộc 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai. Chọn địa điểm nghiên cứu cụ thể như sau: tại mỗi tỉnh chọn có chủ

đích 1 - 2 huyện có số mắc Viêm não vi rút cao trong 5 năm gần đây; từ đó chọn có chủ đích 4 xã có số mắc VNVR cao trong 5 năm gần đây. Địa điểm nghiên cứu cụ thể như sau:

- (1) Tỉnh Sơn La: huyện Mai Sơn (thị trấn Hát Lót, xã Cò Nòi), thành phố Sơn La (phường Quyết Thắng, xã Hua La);
- (2) Tỉnh Điện Biên: huyện Điện Biên (xã Thanh Xương, xã Núa Ngăm, xã Thanh Luông, xã Thanh Hưng);
- (3) Tỉnh Lào Cai: huyện Bảo Thắng (xã Xuân Giao, Gia Phú, Phong Hải, Thị trấn Phố Lu).

2.2.1.6.2. Thời gian: thực hiện điều tra cắt ngang ở tháng cao điểm về Viêm não vi rút trong năm: tháng 6 – 7 năm 2018.

2.2.2.3 Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.2.2.4 Cỡ mẫu nghiên cứu

Tại mỗi xã nghiên cứu tiến hành thu thập muối tại 30 hộ gia đình và 30 chuồng gia súc theo thường quy giám sát muối của Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương.

2.2.2.5 Phương pháp và công cụ thu thập số liệu

Tiến hành điều tra xác định sự hiện diện của muối và bọ gậy muối tại các hộ gia đình. Cán bộ điều tra chia nhóm, mỗi nhóm gồm 2 người. Mỗi nhóm điều tra có các dụng cụ sau: máy hút muối cầm tay, túi điều tra côn trùng, đèn pin, gáo, vợt, pipet, ống nghiệm, lọ đựng mẫu, phiếu điều tra, khay nhôm.

2.2.2.5.1. Thu thập muối

- (4) Thời gian bắt muối: Sử dụng máy hút cầm tay bắt muối đậu nghi trong chuồng gia súc và trong nhà từ 18 đến 22 giờ. Điều tra bọ gậy từ 14 đến 17 giờ cùng ngày;
- (5) Kỹ thuật bắt muối: Thu thập muối vào ban đêm. Sử dụng máy hút muối cầm tay để thu thập muối tại các hộ gia đình, bao gồm soi bắt muối trong nhà và trong chuồng gia súc. Mỗi nhóm bắt muối gồm 2 người, một người soi bắt muối trong nhà ở và một người soi bắt muối ở chuồng

gia súc. Mỗi hộ gia đình điều tra trong 15 phút. Muỗi bắt được bảo quản trong ống tuýp và được vận chuyển về phòng thí nghiệm của Trung tâm Y tế dự phòng/Kiểm soát bệnh tật tỉnh để định loài.

2.2.2.5.2. Thu thập bọ gậy

Sử dụng gáo nhựa có cán, đường kính gáo 15 cm sâu 10 cm để thu thập bọ gậy. Cách thu thập: múc một gáo nhanh và một gáo chậm rồi đổ vào khay trắng. Trung bình mỗi thủy vực múc 10 gáo (trong đó có 5 gáo chậm và 5 gáo nhanh). Dùng pipet hút bọ gậy cho vào lọ. Bọ gậy tuổi 3-4 định loại ngay còn bọ gậy tuổi 1-2 ghi nhận sự có mặt. Sau khi thu thập bọ gậy, người điều tra quan sát và ghi nhận sự có mặt của cây thủy sinh (bèo, lúa, cây cỏ...) và dùng thước có chia độ để đo và ghi nhận chiều cao lượng nước có trong các thủy vực.

2.2.2.6. Định loại muỗi và bọ gậy muỗi

Định loại muỗi và bọ gậy do cán bộ Khoa Côn trùng và động vật y học, Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương thực hiện theo khóa định loại muỗi ở Việt Nam của Chester J. Stojanovich và Harold Georye Scott, 1965 [123].

2.2.2.7. Các biến số và chỉ số nghiên cứu

| Biến số | Chỉ số nghiên cứu | Cách tính/PP thu thập TT |
|--------------------------|---|---|
| Thành phần các loài muỗi | Danh sách và số lượng các loài muỗi thu được | <u>Điều tra thực địa, định loại</u> |
| Phân bố, các chỉ số muỗi | Tỷ lệ các loài muỗi thu thập được tại địa điểm nghiên cứu | <u>Số lượng muỗi mỗi loài, theo tỉnh</u> Tổng số lượng muỗi thu thập được |
| | Tỷ lệ các loài muỗi Culex theo sinh cảnh, theo tỉnh | <u>Số muỗi Culex mỗi loài</u> Tổng số muỗi Culex thu được theo tỉnh/theo sinh cảnh |
| | Chỉ số mật độ muỗi chuồng gia súc | <u>Số muỗi của từng loài trong chuồng gia súc</u> Tổng số chuồng gia súc điều tra |
| | Chỉ số mật độ muỗi trong nhà | <u>Số muỗi của từng loài trong nhà</u> |

| Biến số | Chỉ số nghiên cứu | Cách tính/PP thu thập TT |
|---|---|--|
| | | Tổng số nhà điều tra |
| Quần thể bọ gậy muỗi VNNB, và yếu tố ảnh hưởng | Chỉ số bọ gậy của từng loài | <u>Số lượng bọ gậy Culex từng loài</u> Tổng số bọ gậy thu được |
| | Chỉ số Bọ gậy Culex theo thủy vực/sinh cảnh | <u>Số thủy vực/thủy sinh (+) bọ gậy</u> <u>Tổng số thủy vực/sinh cảnh điều tra</u> |
| | Chỉ số bọ gậy Culex theo mức nước của thủy vực | <u>Số bọ gậy Culex/thủy vực mức nước >10cm</u> <u>Số bọ gậy Culex/thủy vực mức nước <10cm</u> |
| | Chỉ số thủy vực có bọ gậy | <u>Số thủy vực có bọ gậy Culex từng loại</u> Tổng số thủy vực điều tra |

2.3 Mục tiêu 3: Xác định chi phí điều trị trực tiếp cho người bệnh Viêm não vi rút tại các cơ sở y tế ở 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

2.3.1 Đối tượng nghiên cứu

Người mắc VNVR là đối tượng nghiên cứu ở Mục tiêu 1.

Tiêu chuẩn lựa chọn

- Người bệnh đáp ứng với các tiêu chí về đối tượng nghiên cứu như đã nêu trên;
- Người bệnh/người chăm sóc nếu người bệnh là trẻ em dưới 18 tuổi đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Người bệnh tử vong do VNVR (hoặc tự xin về vì bệnh nặng, thường xảy ra nhanh, ngay thời kỳ đầu nhập viện, khó tiếp cận). Những ca này không tính được chi phí cho cả đợt điều trị nên không đưa vào nghiên cứu chi phí;
- Hồ sơ bệnh án, giấy thanh toán viện phí của người bệnh được chọn vào nghiên cứu tại bệnh viện mà người bệnh khám, chữa bệnh trong đợt VNVR.

2.3.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại các cơ sở y tế nơi người bệnh VNVR đã khám, điều trị, bao gồm: bệnh viện huyện, bệnh viện đa khoa tỉnh thuộc 3 tỉnh vùng Tây

Bắc bao gồm Sơn La, Điện Biên, và Lào Cai trong thời gian từ tháng 1/2017 đến tháng 12/2018.

2.3.3 Thiết kế nghiên cứu

Áp dụng phương pháp nghiên cứu mô tả với việc phân tích chi phí dịch vụ điều trị tại cơ sở y tế, dựa trên hồi cứu các số liệu sẵn có, trên quan điểm của người cung cấp dịch vụ.

2.3.4 Cỡ mẫu

Toàn bộ người bệnh VNVR trên địa bàn nghiên cứu, đáp ứng tiêu chí lựa chọn. Tổng số có 473 người bệnh VNVR trong giai đoạn này. Sau khi loại các ca tử vong, 456 người khỏi bệnh được chọn vào nghiên cứu chi phí điều trị trực tiếp liên quan đến y tế.

2.3.5 Phương pháp và công cụ thu thập thông tin

Thông tin được thu thập qua hai hình thức sau:

- Phỏng vấn người bệnh/hoặc người chăm sóc nếu là trẻ em dưới 18 tuổi;
- Hồi cứu thông tin từ bệnh án, phiếu thanh toán viện phí của người bệnh VNVR.

Bộ công cụ thu thập thông tin được thiết kế với 2 phần tương ứng: phỏng vấn có cấu trúc và hồi cứu thông tin sẵn có có liên quan.

2.3.6 Nội dung và phương pháp phân tích chi phí

Các chi phí bao gồm chi phí trước khi đến khám chữa bệnh, trong khi khám chữa bệnh và sau khám hoặc nằm viện, và chi phí sau khi ra viện. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ đề cập đến chi phí trực tiếp cho y tế tại bệnh viện của người bệnh VNVR.

Chi phí trực tiếp cho y tế gồm:

- Chi cho khám bệnh = số lần khám x giá 1 lần khám;
- Chi cho ngày giường = số ngày nằm viện x giá cho một ngày giường;
- Chi phí cho chẩn đoán hình ảnh, xét nghiệm và thuốc điều trị.

Nguồn chi trả gồm:

- Người bệnh tự chi trả;
- Bảo hiểm y tế chi trả.

2.3.7. Các biến số và chỉ số nghiên cứu

| Biến số nghiên cứu | Định nghĩa/chỉ số | Phương pháp thu thập TT |
|--|--|--------------------------------|
| Thông tin đối tượng | | |
| Tuổi | Tuổi tính theo năm của đối tượng | PV |
| Giới tính | Nam, Nữ | PV |
| Nghề nghiệp | Còn nhỏ, học sinh, nông dân, khác | PV |
| Dân tộc | Đối tượng thuộc dân tộc nào | PV |
| Trình độ học vấn | Không đi học, tiểu học, THCS, THPT, CD/ĐH, trên đại học | PV |
| Tình trạng bệnh | | |
| Khỏi bệnh | BN khỏi ra viện | PV |
| Di chứng | Tỷ lệ BN có di chứng | PV, phiếu ra viện |
| Số ngày điều trị trung bình | | |
| | Số ngày điều trị tại BV huyện và tỉnh | PV, phiếu ra viện |
| Chi phí điều trị theo tuyến | | |
| | Chi phí điều trị tại BV huyện và tỉnh | PV, phiếu ra viện |
| Chi phí trực tiếp theo các hạng mục y tế | | |
| | Chi phí điều trị VNVR theo giường bệnh, cận lâm sàng, thuốc máu, dịch truyền, vật tư tiêu hao, thủ thuật, vận chuyển và khác | PV, phiếu ra viện |
| Chi phí điều trị VNVR tại bệnh viện tỉnh | | |
| | Chi phí điều trị VNVR tại khoa cấp cứu, tích cực, truyền nhiễm và khao khác | PV, phiếu ra viện |
| Chi phí điều trị VNVR theo thời gian điều trị | | |
| | Chi phí điều trị 7 ngày, 7-14 và > 14 ngày | PV, phiếu ra viện |
| Chi phí điều trị VNVR theo tác nhân | | |
| | Chi phí điều trị VNVR do VNNB, VRĐR, khác (dengue, HSV, hCMV) | PV, phiếu ra viện |

2.4 Xử lý số liệu

Số liệu được nhập và xử lý trên phần mềm Epi Data 3.1 và phân tích bằng phần mềm STATA. Các thuật toán thống kê đơn biến sẽ được sử dụng để mô tả đặc tính

của các đối tượng nghiên cứu. Số liệu sau khi phân tích được trình bày dưới dạng bảng, biểu đồ.

2.5 Sai số và cách hạn chế sai số

Nghiên cứu thu thập thông tin qua điều tra hàng loạt ca bệnh VNVR từ 2017-2018. Việc chỉ định lấy mẫu ở các bệnh viện có thể bị bỏ sót, mã hoá thông tin người bệnh có thể nhầm lẫn, các mẫu bệnh phẩm có thể được bảo quản vận chuyển chưa đúng theo quy định sẽ làm ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Kỹ thuật điều tra muỗi, định loại muỗi và bộ gậy muỗi VNNB trên thực địa phụ thuộc vào kỹ năng và trình độ của các điều tra viên nên có thể có nhầm lẫn và sai lệch.

Để khắc phục đã tổ chức tập huấn kỹ lưỡng cho cán bộ tham gia nghiên cứu ở các bệnh viện, có sự hỗ trợ giám sát thường xuyên của cán bộ TTYTDP tỉnh để đảm bảo việc lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển mẫu theo đúng quy định. Mã hoá các thông tin người bệnh được tập huấn và thực hiện rà soát bởi cán bộ điều tra dịch tễ của các TTYTDP tỉnh đảm bảo không nhầm lẫn, sai sót.

Các kỹ thuật xét nghiệm tác nhân gây bệnh VNVR được thực hiện tại các phòng xét nghiệm chuẩn thức của Viện VSDTTU' .

Tập huấn kỹ lưỡng cho cán bộ tham gia điều tra muỗi và bộ gậy muỗi VNNB tại thực địa. Định loại muỗi và bộ gậy do cán bộ chuyên côn trùng của Viện VSDTTU' thực hiện theo khoá định loại của Chester J. Stojanovich và Harold Georje Scott, 1965 [123].

Chi phí trực tiếp cho điều trị của người bệnh VNVR được trích xuất từ phần mềm quản lý của bệnh viện nên khá chính xác và đầy đủ.

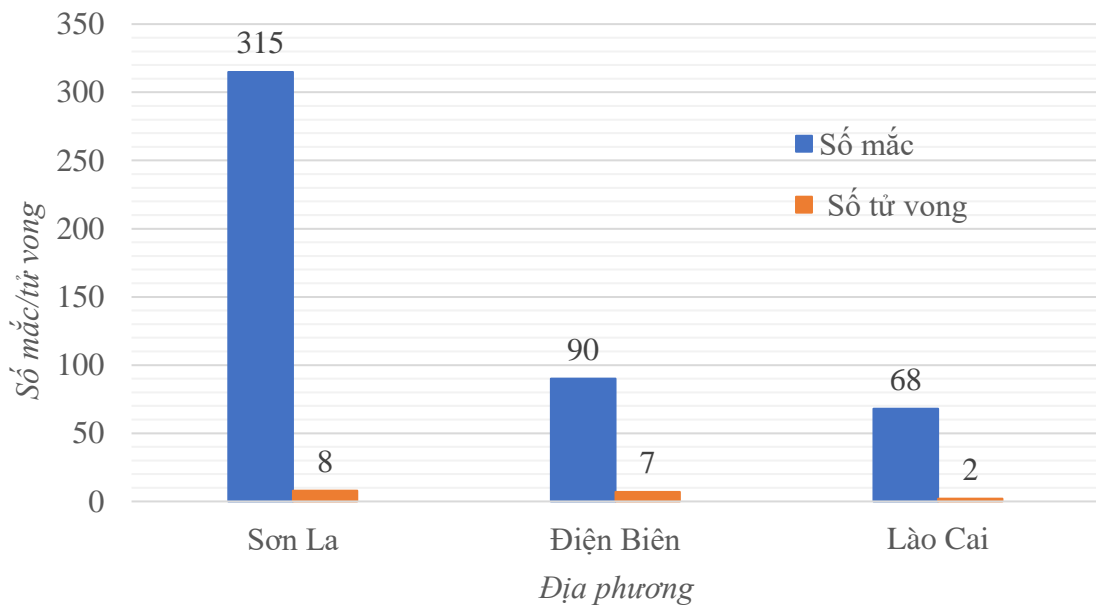
2.6 Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng Y đức của Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương theo quyết định số IRB-VN 01057-47/206 ngày 30/12/2016 số 47/2016. Các thông tin thu thập chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thực trạng của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

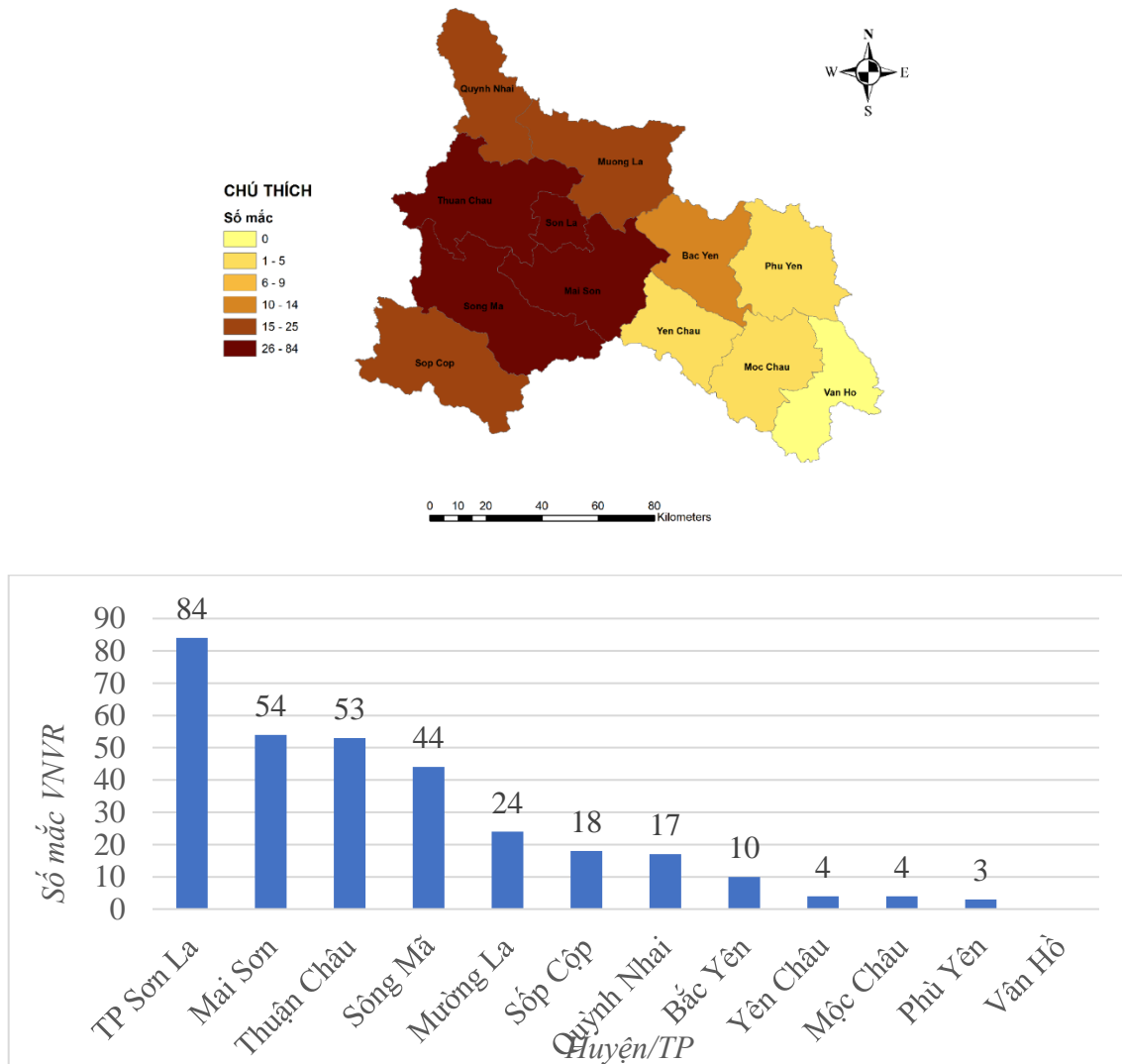
3.1.1. Phân bố bệnh Viêm não vi rút theo địa dư



Hình 3.1. Phân bố số mắc và tử vong do VNVR theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 (n=473)

Trong 2 năm 2017-2018 tại 3 tỉnh khu vực Tây Bắc đã ghi nhận tổng số 473 ca bệnh VNVR lâm sàng được điều tra, thu thập mẫu, trong đó 17 ca tử vong, tỷ lệ chết/mắc là 3,6%. Số liệu tại Sơn La là 315 ca mắc, 8 ca tử vong, cao nhất trong khu vực; tiếp theo là Điện Biên 90 ca mắc, 7 ca tử vong; Lào Cai 68 ca mắc, 2 ca tử vong. Tỷ lệ mắc Viêm não vi rút trên 100.000 dân trung bình trong giai đoạn 2017 – 2018 trên địa bàn tỉnh Sơn La là 13,1 ca/100.000 dân, Điện Biên 8,5 ca/100.000 dân; Lào Cai là 5,1 ca/100.000 dân. Tỷ lệ tử vong cao nhất là ở tỉnh Điện Biên (7,8%), còn ở Sơn La là 2,5% và Lào Cai là 2,9%.

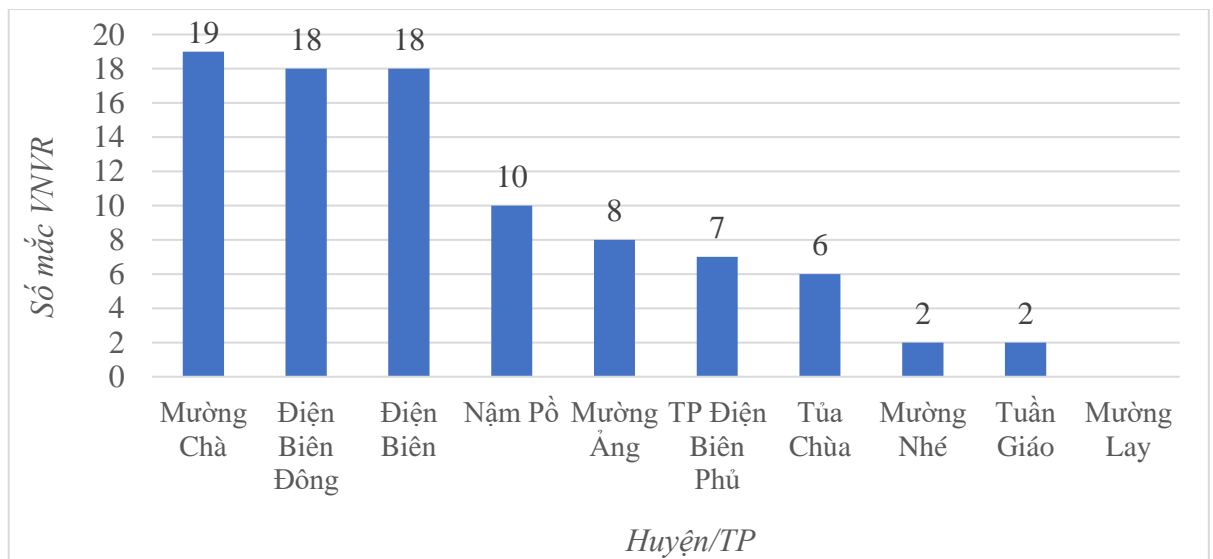
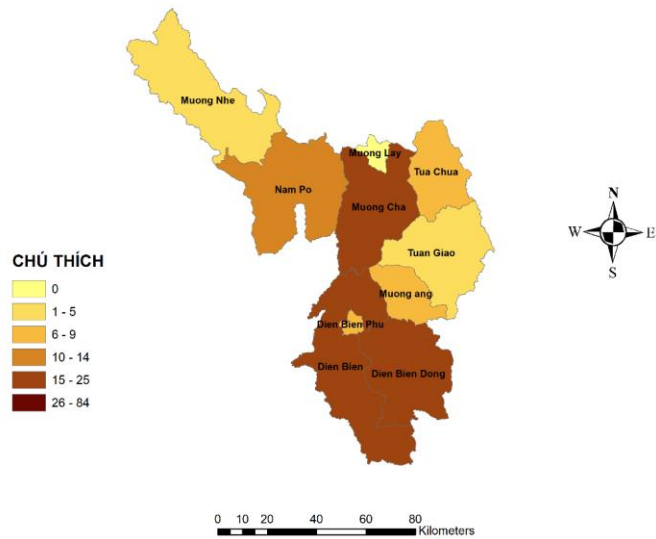
Tại tỉnh Sơn La



Hình 3.2. Phân bố số mắc VNVR tại tỉnh Sơn La theo huyện, 2017 – 2018

Ca bệnh VNVR năm 2017 – 2018 phân bố tại 11/12 huyện/thành phố của tỉnh Sơn La, riêng huyện Vân Hồ không ghi nhận ca nào. Số mắc tập trung cao ở khu vực phía Tây gồm thành phố Sơn La (84 ca), Mai Sơn (54 ca), Thuận Châu (53 ca), Sông Mã (44 ca). Các huyện còn lại ghi nhận dưới 25 ca. Từ vong ghi nhận tại các huyện Sốp Cộp (3 ca), Sông Mã (2 ca), Mường La (1 ca), Quỳnh Nhai (1 ca), và Bắc Yên (1 ca). Tỷ lệ mắc trung bình của tỉnh Sơn La là 13,1 ca/100.000 dân.

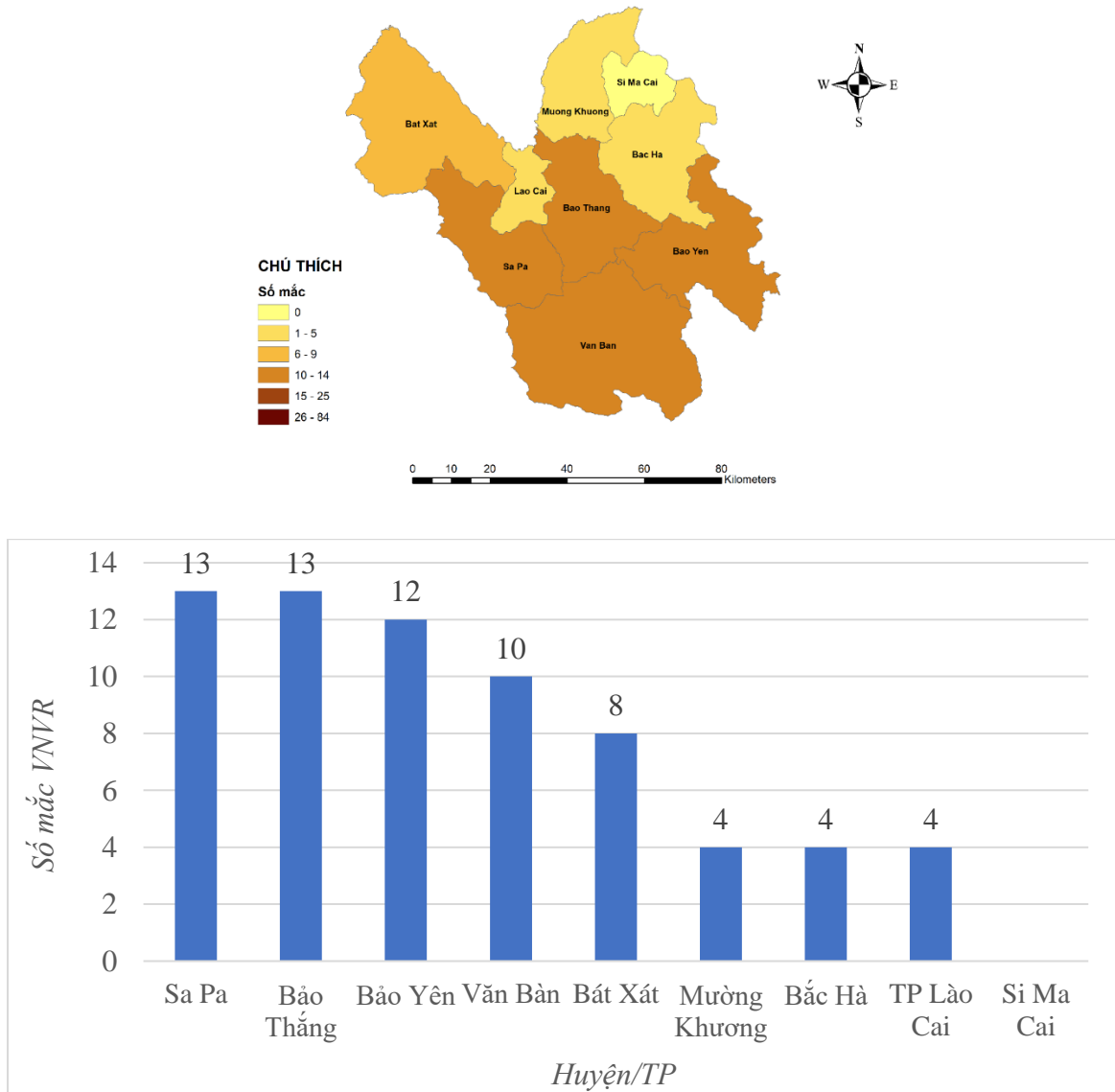
Tại tỉnh Điện Biên



Hình 3.3. Phân bố số mắc VNVR tại tỉnh Điện Biên theo huyện, 2017 – 2018

Có 9 trên tổng số 10 huyện/thành phố/thị xã của tỉnh Điện Biên ghi nhận ca bệnh VNVR trong năm 2017 – 2018, tập trung ở các huyện Mường Chà (19 ca mắc, 3 ca tử vong), Điện Biên Đông (18 ca mắc, 1 ca tử vong), Nậm Pồ (10 ca mắc, 2 ca tử vong). Huyện Mường Lay không ghi nhận VNVR trong 2 năm nghiên cứu. Tỷ lệ mắc trung bình tại tỉnh Điện Biên là 8,5 ca/100.000 dân.

Tại tỉnh Lào Cai

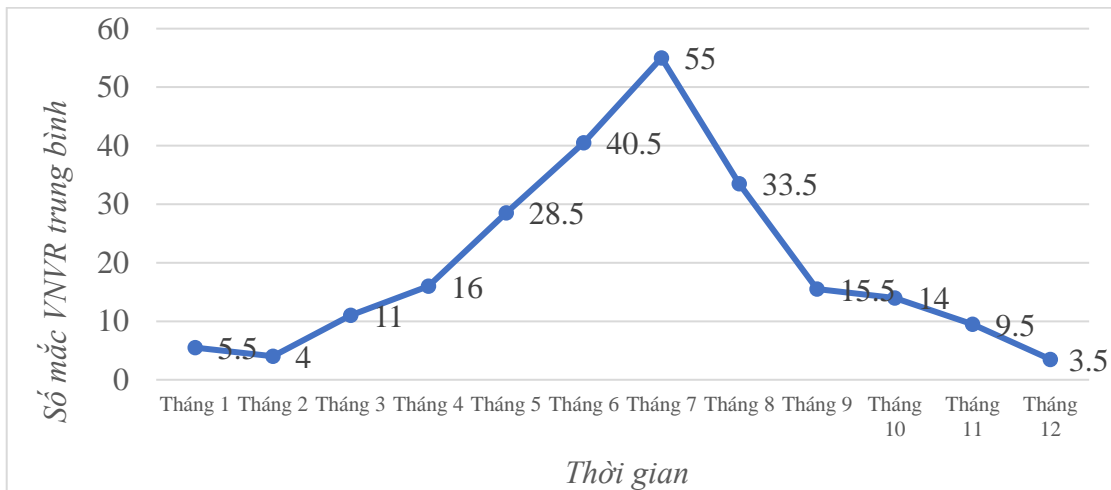


Hình 3.4. Phân bố số mắc VNVR tại tỉnh Lào Cai theo huyện, 2017 – 2018

Năm 2017 – 2018, Lào Cai ghi nhận VNVR tại 8 trên tổng số 9 huyện/thành phố/thị xã, cao nhất tại Sa Pa (13 ca mắc, 1 ca tử vong), Bảo Yên (12 ca mắc), Bảo Thắng (13 ca mắc), Văn Bàn (10 ca mắc). Huyện Si Ma Cai không ghi nhận VNVR trong 2 năm nghiên cứu. Tỷ lệ mắc trung bình ở Lào Cai là 5,1 ca/100.000 dân.

3.1.2. Phân bố bệnh Viêm não vi rút theo thời gian

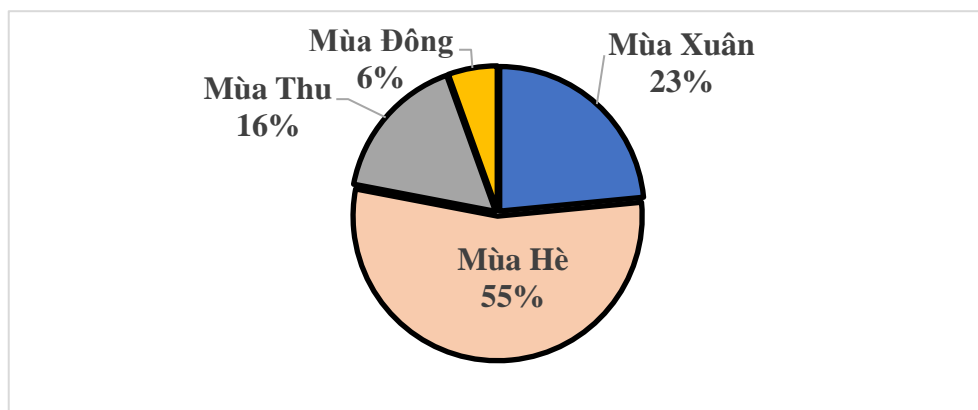
Phân bố ca bệnh VNVR trung bình theo tháng



Hình 3.5. Phân bố ca bệnh VNVR trung bình theo tháng tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 (n=473)

VNVR ghi nhận ở tất cả các tháng trong năm nhưng bắt đầu tăng từ tháng 4 và đạt đỉnh vào các tháng 6 – 7, trung bình từ 40 – 55 ca /tháng. Riêng hai tháng 6 và 7 số mắc chiếm 40,4% tổng số mắc cả năm. Từ tháng 9 đến tháng 12, số mắc giảm dần, các tháng 12, 1, 2 chỉ ghi nhận rất ít. Tử vong cũng cao nhất trong tháng 6 (tổng số 3 ca trong 2 năm 2017 - 2018) và tháng 7 (tổng số 7 ca trong 2 năm 2017 - 2018) chiếm 58,8% tổng số ca tử vong của cả năm. Sự phân bố này tương đồng ở cả 3 tỉnh.

Phân bố ca bệnh VNVR theo mùa

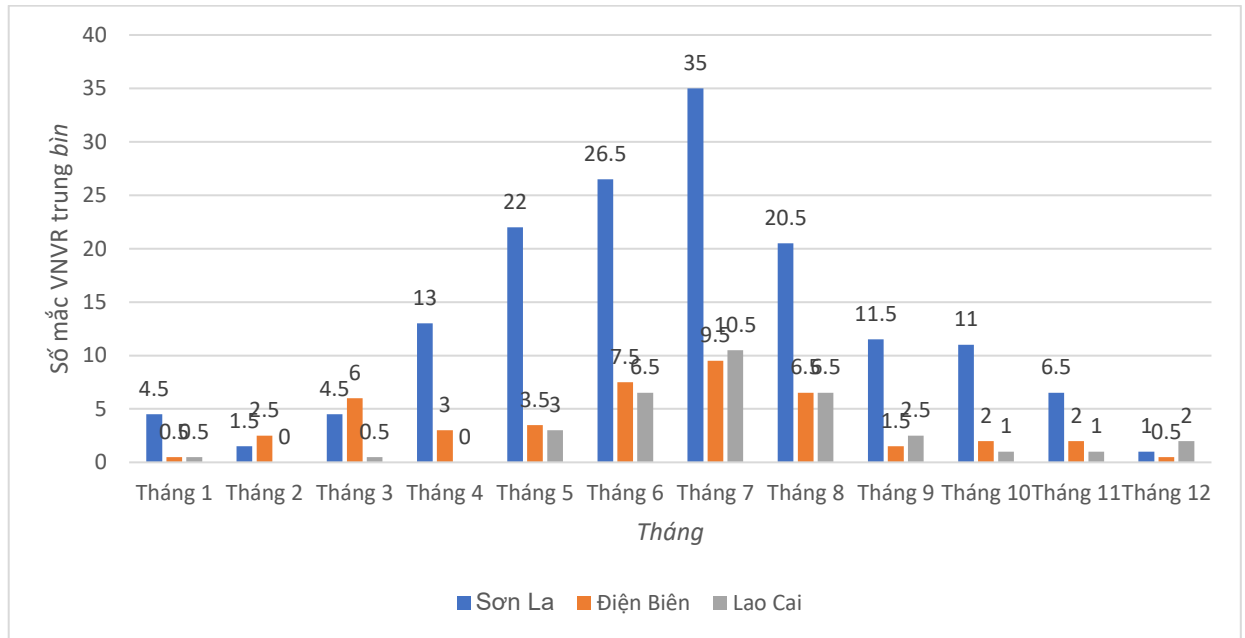


Hình 3.6. Phân bố ca bệnh VNVR theo mùa tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 (n=473)

Phân tích diễn biến bệnh VNVR ở Tây Bắc năm 2017 – 2018 theo mùa cho thấy có tới 258 ca bệnh ghi nhận vào các tháng mùa hè (từ tháng 6 – tháng 8 dương lịch, tương đương tháng 4 – tháng 6 âm lịch), chiếm 55% tổng số ca bệnh. Mùa đông

(tháng 12 - tháng 2 dương lịch, tương đương khoảng tháng 10 – tháng 12 âm lịch) ghi nhận ít ca bệnh nhất, với 26 ca trong 2 năm 2017 – 2018, tương đương 6% tổng số ca mắc. Các tháng của mùa xuân và mùa thu vẫn ghi nhận ca bệnh và có số lượng mắc ở mức trung bình.

Phân bố ca bệnh VNVR trung bình theo tháng và theo từng tỉnh

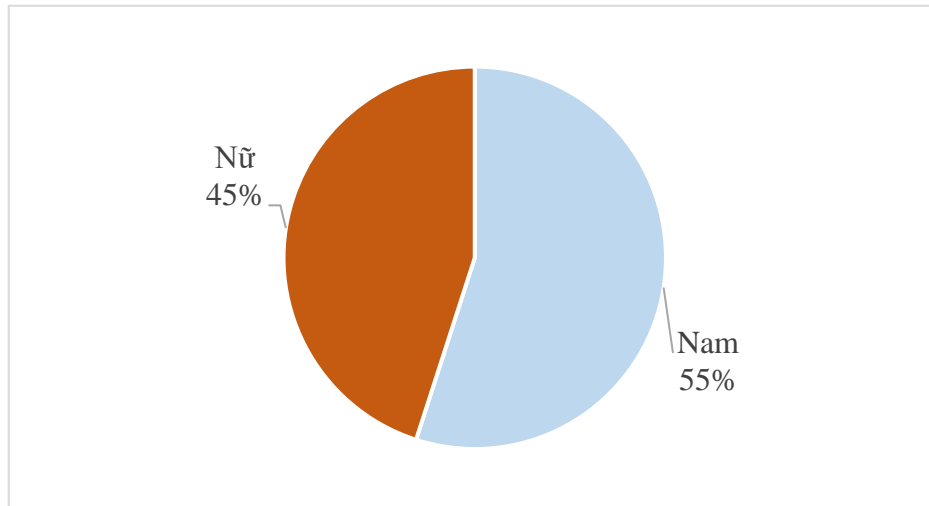


Hình 3.7. Phân bố ca bệnh VNVR trung bình theo tháng tại tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017 – 2018

(Sơn La n=315; Điện Biên, n=90; Lào Cai, n=68)

Khi xem xét phân bố ca bệnh VNVR trung bình theo tháng tại từng tỉnh, chúng tôi nhận thấy cả 3 tỉnh đều ghi nhận số ca mắc cao nhất vào tháng 7. Số mắc tại Sơn La và Lào Cai thấp trong các tháng từ tháng 1 – tháng 4, tăng dần và đạt đỉnh vào tháng 7, sau đó lại có xu hướng giảm vào các tháng cuối năm. Tại Điện Biên, ngoài đỉnh dịch vào tháng 7, còn ghi nhận số mắc tăng vào tháng 3; các tháng đầu và cuối năm có số mắc thấp.

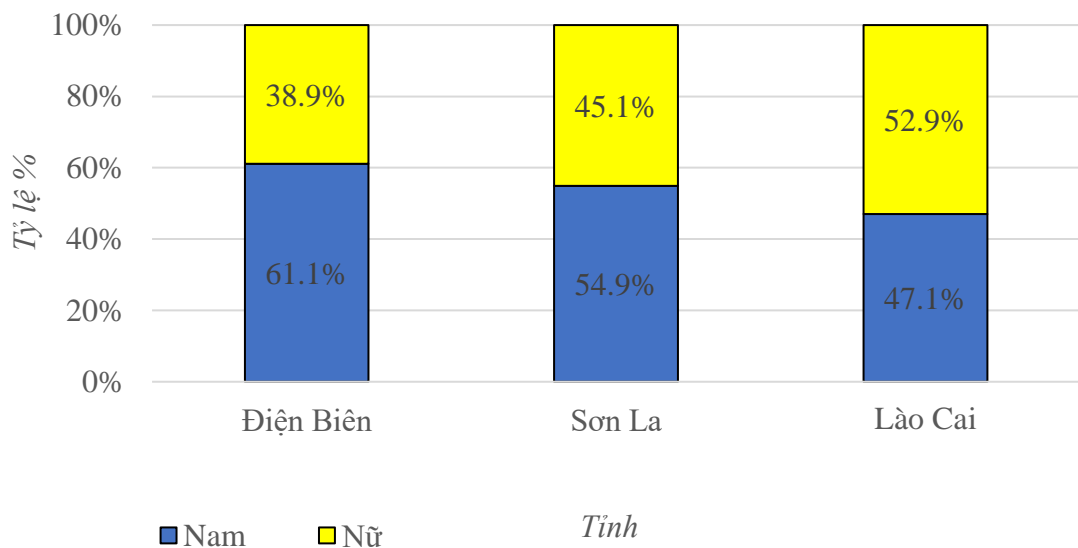
3.1.3. Phân bố bệnh Viêm não vi rút theo giới tính



Hình 3.8. Phân bố ca bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc theo giới tính, 2017 – 2018 (n=473)

Dẫn liệu tại Hình 3.8 cho thấy ca mắc phân bố ở cả 2 giới tính, nam chiếm tỷ lệ 55% (260 ca) cao hơn không đáng kể so với nữ (213 ca, 45%).

Phân bố ca bệnh VNVR theo giới tính và theo tỉnh



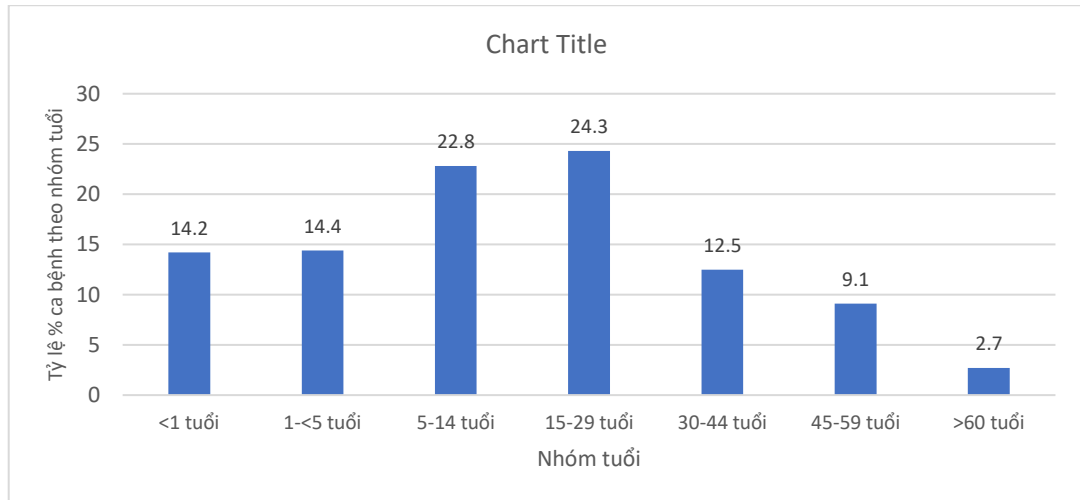
Hình 3.9. Phân bố ca bệnh VNVR ở Tây Bắc theo tỉnh và theo giới tính, 2017 – 2018 (n=473)

Xét riêng từng tỉnh, số ca bệnh là nam tại Sơn La (173 ca, 54,9%) cao hơn nữ. Điện Biên cũng có phân bố ca bệnh theo giới tính tương tự, với 55 ca nam giới chiếm

61,1%, cao hơn nữ giới. Riêng tỉnh Lào Cai có tỷ lệ ca bệnh nam giới (32 ca, 47,1%) thấp hơn so với nữ giới.

3.1.4. Phân bố bệnh Viêm não vi rút theo nhóm tuổi

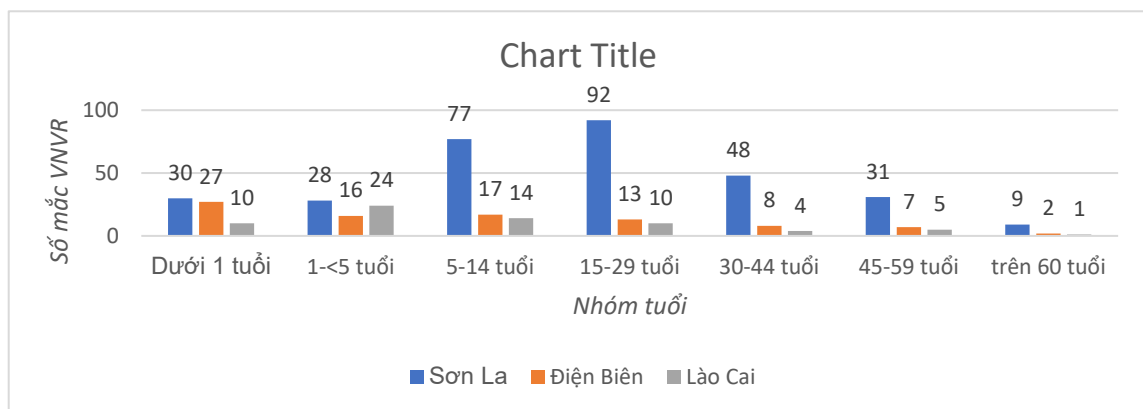
Phân bố ca bệnh VNVR theo nhóm tuổi



Hình 3.10. Phân bố ca bệnh VNVR, 3 tỉnh theo nhóm tuổi, 2017 – 2018 (n=473)

Ca bệnh VNVR phân bố ở tất cả các nhóm tuổi, trong đó phần lớn ở nhóm trẻ dưới 5 tuổi, chiếm tỷ lệ 28,6% (135 ca), có một tỷ lệ không nhỏ là trẻ dưới 1 tuổi với 67 ca (14,2%); tiếp theo là nhóm 15 – 29 tuổi chiếm 24,3% (115 ca); nhóm 5 – 14 tuổi chiếm tỷ lệ 22,8% (108). Ghi nhận 13 ca ở nhóm trên 60 tuổi, chiếm tỷ lệ thấp nhất (2,7%).

Phân bố ca bệnh VNVR theo nhóm tuổi theo từng tỉnh

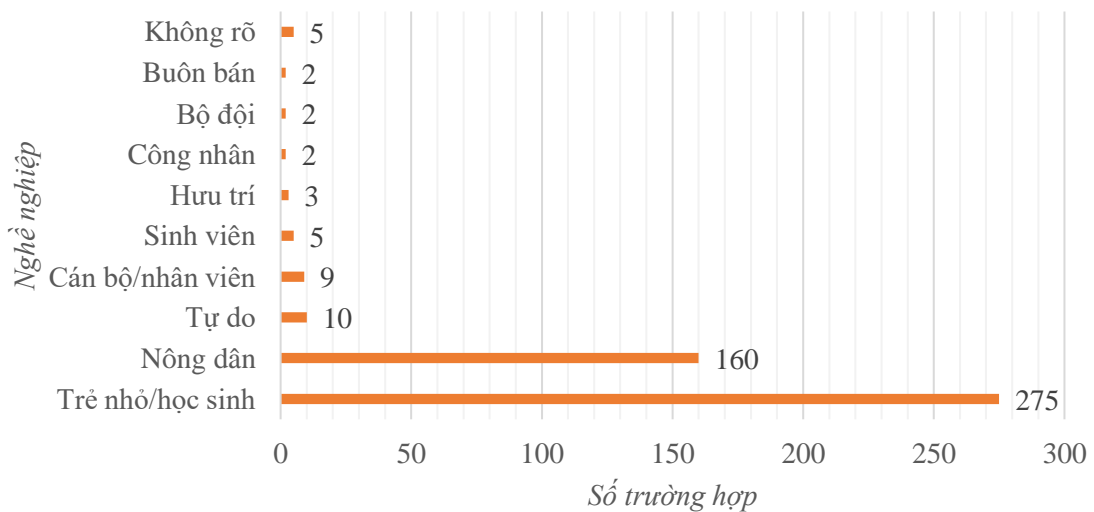


Hình 3.11. Phân bố ca bệnh VNVR theo nhóm tuổi tại 3 tỉnh, 2017 – 2018

(Sơn La n=315, Điện Biên, n=90, Lào Cai, n=68)

Ở mỗi tỉnh, sự phân bố nhóm tuổi của các ca bệnh VNVR lại có đặc trưng riêng. Sơn La ghi nhận số mắc cao nhất ở nhóm 15 – 29 tuổi (92 ca, 29%), tiếp theo là nhóm 5 – 14 tuổi (77 ca, 24,4%). Số mắc nằm trong nhóm tuổi trưởng thành, 30 – 59, chiếm tới 25,1%. Ghi nhận 30 ca mắc trong nhóm trẻ dưới 1 tuổi, chiếm 9,5%. Tại Điện Biên, số ca mắc VNVR là trẻ dưới 15 tuổi chiếm tỷ lệ lớn với 60/tổng số 90 ca, bằng 66,7%. Đặc biệt, có tới 27 đối tượng là trẻ dưới 1 tuổi, chiếm 30% tổng số ca toàn tỉnh. Số ca mắc thuộc nhóm trên 30 tuổi chiếm tỷ lệ thấp. Số mắc VNVR tại Lào Cai nằm trong nhóm 1 – <5 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất với 24 ca, 35,3%. Tính chung số mắc trong nhóm dưới 15 tuổi lên tới 48/tổng số 68 ca, chiếm 70,6%. Số ca mắc trong nhóm người lớn trên 30 tuổi chiếm tỷ lệ thấp.

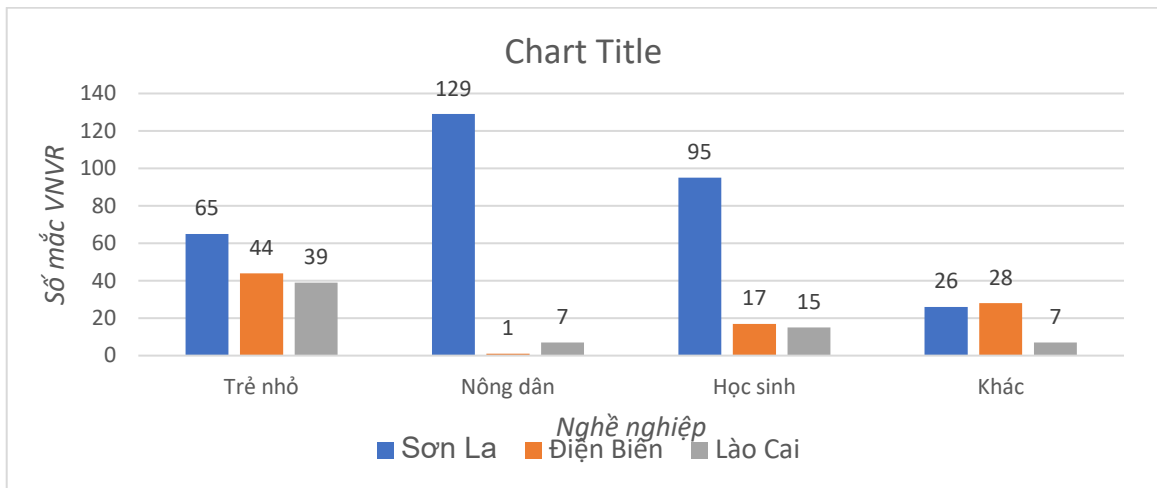
3.1.5. Phân bố ca bệnh Viêm não vi rút theo nghề nghiệp



Hình 3.12. Phân bố ca bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc theo nghề nghiệp, 2017 – 2018 (n=473)

Dẫn liệu Hình 3.12 cho thấy chiếm tỷ lệ cao nhất, 58,1% số ca mắc là trẻ nhỏ, học sinh, tiếp theo là nghề nông, 33,8%, các nghề nghiệp khác như cán bộ, công nhân, bộ đội, buôn bán, ... ghi nhận với tỷ lệ nhỏ, dưới 10 ca mắc.

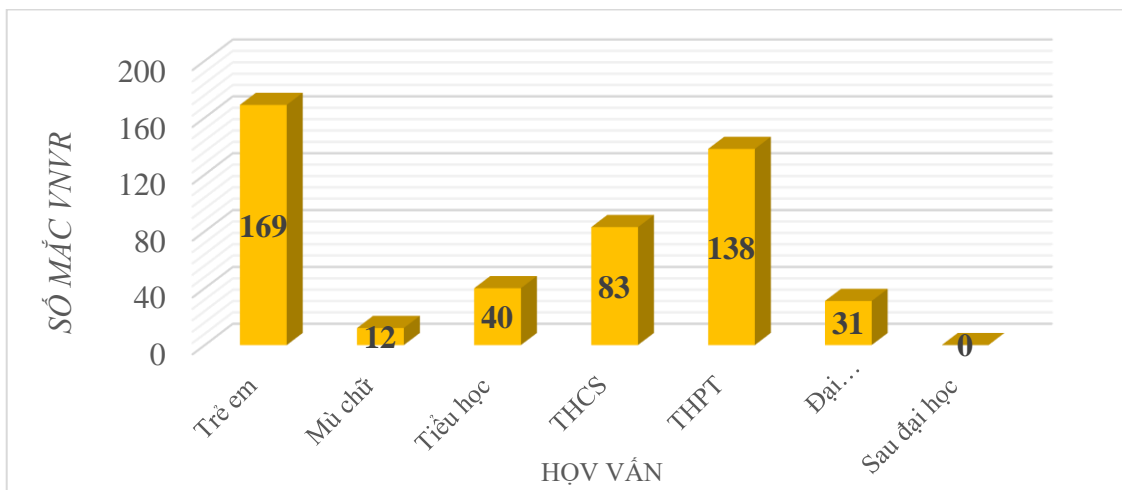
Phân bố ca bệnh VNVR theo nghề nghiệp tại từng tỉnh



Hình 3.13. Phân bố ca bệnh VNVR tại Sơn La, Điện Biên và Lào Cai theo nghề nghiệp, 2017 – 2018 (Sơn La, n=315; Điện Biên, n=90; Lào Cai, n=68)

Tại Sơn La, các ca mắc tập trung vào nhóm nghề nông (129 ca, 41% tổng số mắc), và học sinh (95 ca, 30,2% tổng số mắc). Trẻ nhỏ chưa đi học và các nghề nghiệp khác chiếm tỷ lệ thấp hơn. Trong khi đó, Điện Biên ghi nhận tới 48,9% số ca trong nhóm trẻ nhỏ dưới tuổi đi học, đặc biệt chỉ ghi nhận 1 ca là nông dân. Nhóm nghề nghiệp khác (buôn bán, tự do, nhân viên văn phòng, ...) chiếm tỷ lệ đáng kể với 28 ca, tương đương 31,1%. Lào Cai có phân bố nghề nghiệp của các ca VNVR khá tương đồng với Điện Biên khi có tới 57,4% số ca mắc trong nhóm trẻ nhỏ dưới tuổi đi học và 22,1% trong nhóm học sinh. Nông dân và các nghề nghiệp khác chiếm tỷ lệ thấp.

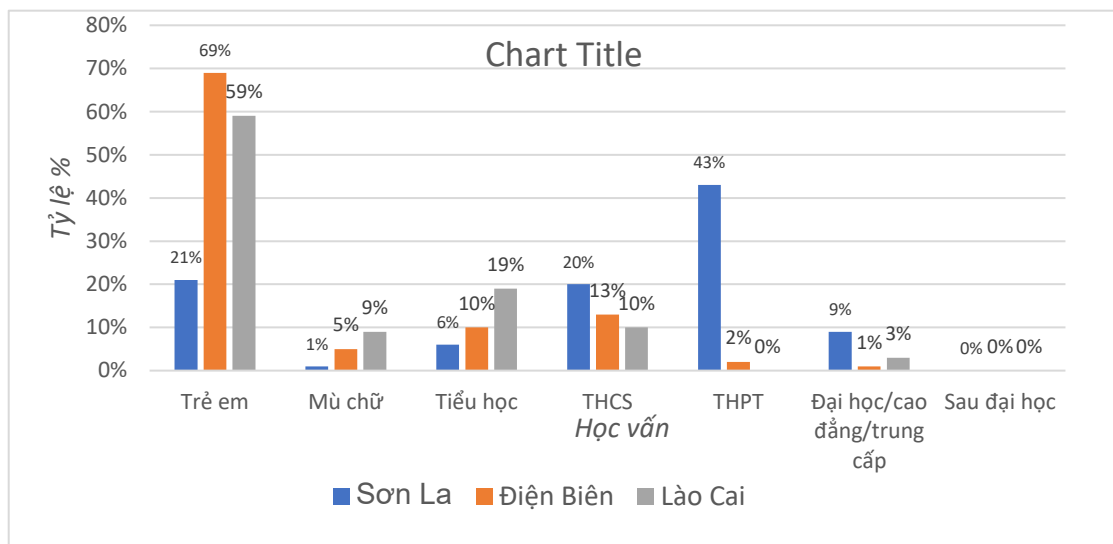
3.1.6. Phân bố ca bệnh Viêm não vi rút theo trình độ học vấn



Hình 3.14. Phân bố ca bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc theo trình độ học vấn, 2017 – 2018 (n=473)

Trong 473 ca VNVR được đưa vào nghiên cứu, nhóm trẻ em chưa đến tuổi đi học chiếm tỷ lệ cao nhất (169 ca, 35,7%), tiếp theo là nhóm học sinh THPT với 138 ca, 29,2%. Có một tỷ lệ nhỏ (6,6%) số ca bệnh có trình độ Đại học/cao đẳng/trung cấp và 2,5% ca mù chữ.

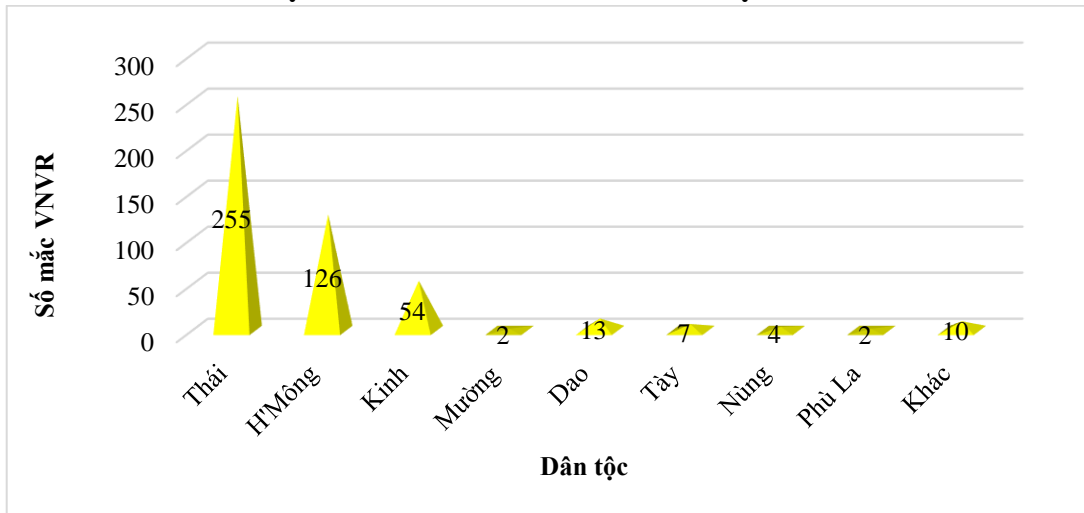
Phân bố ca bệnh VNVR theo trình độ học vấn và theo từng tỉnh



Hình 3.15. Phân bố ca bệnh VNVR tại Sơn La, Điện Biên và Lào Cai theo trình độ học vấn, 2017 – 2018 (Sơn La, n=315, Điện Biên, n=90, Lào Cai, n=68)

Về phân bố theo trình độ học vấn, tại Sơn La, nhóm THPT chiếm tỷ lệ cao nhất (43%), tiếp theo là trẻ em chưa đến tuổi đi học (21%) và THCS (20%). Có tới 9% số ca mắc có trình độ đại học/cao đẳng/trung cấp và 1% mù chữ. Tại Điện Biên, 69% số ca là trẻ em chưa đến tuổi đi học. Có 5% số ca mù chữ. Trình độ tiểu học, THCS và THPT lần lượt chiếm các tỷ lệ 10%, 13% và 2%. Tương tự, Lào Cai cũng ghi nhận tỷ lệ mắc cao trong nhóm trẻ em chưa đến tuổi đi học (59%). Có 9% số ca mù chữ.

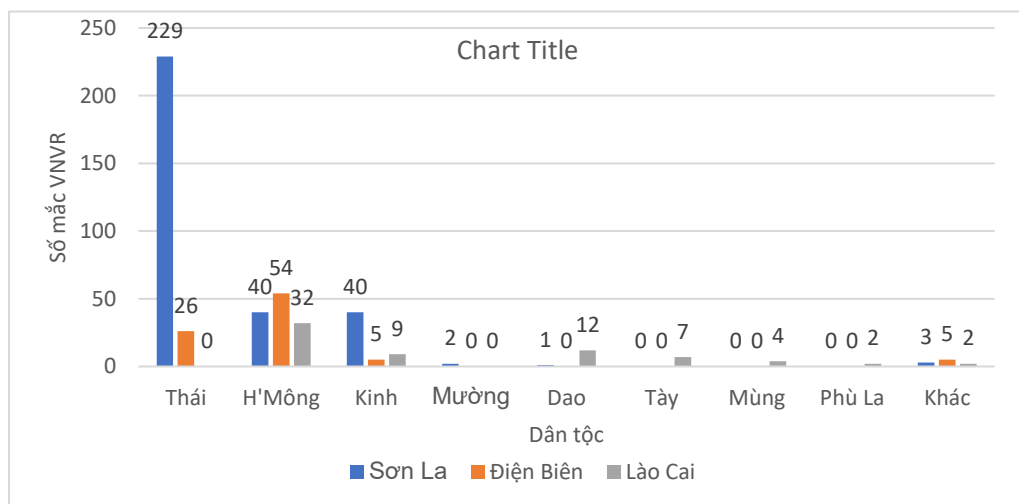
3.1.7. Phân bố ca bệnh Viêm não vi rút theo dân tộc



Hình 3.16. Phân bố ca bệnh VNVR tại 3 tỉnh theo dân tộc, 2017 – 2018 (n=473)

Trong 473 ca bệnh VNVR, dân tộc Thái chiếm tỷ lệ cao nhất với 255 ca, (53,9%), tiếp theo là dân tộc H'Mông, 26,6% (126 ca), có 54 ca bệnh là dân tộc Kinh (11,4%). Các dân tộc Mường, Dao, Tày, Nùng, Phù La và dân tộc thiểu số khác chiếm tỷ lệ nhỏ.

Phân bố ca bệnh VNVR theo dân tộc và theo từng tỉnh



Hình 3.17. Phân bố ca bệnh VNVR tại Sơn La, Điện Biên và Lào Cai theo dân tộc, 2017 – 2018 (Sơn La, n=315, Điện Biên, n=90; Lào Cai, n=68)

Tỉnh Sơn La có số ca bệnh thuộc dân tộc Thái chiếm tỷ lệ cao (72,7%), H'Mông và Kinh cùng ghi nhận 40 ca (12,7%). Các dân tộc thiểu số khác như Mường, Dao, ... ghi nhận lẻ tẻ 1 – 2 ca. Trong khi đó, tại Điện Biên, dân tộc H'Mông chiếm

tỷ lệ cao nhất với 54 ca tương đương 60% số mắc. tiếp theo là dân tộc Thái (28,9%), các dân tộc khác ghi nhận rải rác một vài ca. Tương tự, Lào Cai ghi nhận số mắc là dân tộc Mông chiếm tỷ lệ cao nhất (32 ca, 47,1%), dân tộc Dao ở vị trí số 2 với 12 ca mắc tương đương 17,6%, các dân tộc Kinh, Tày, Nùng, ... chiếm tỷ lệ nhỏ.

3.1.8. Một số đặc điểm của các ca bệnh tử vong do VNVR

Bảng 3.1. Tỷ lệ chết/mắc do VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018

| TT | Tỉnh | Số tử vong | Số mắc VNVR | Tỷ lệ chết/mắc |
|----|-------------|------------|-------------|----------------|
| 1 | Sơn La | 8 | 315 | 2,5% |
| 2 | Điện Biên | 7 | 90 | 7,8% |
| 3 | Lào Cai | 2 | 68 | 2,9% |
| | Tổng | 17 | 473 | 3,6% |

Trong 2 năm nghiên cứu, 3 tỉnh Tây Bắc đã ghi nhận 17 ca tử vong trên tổng số 473 ca mắc VNVR, tỷ lệ chết/mắc là 3,6%. Sơn La ghi nhận tỷ lệ chết/mắc là 2,5%; tại Điện Biên là 7,8% và Lào Cai là 2,9%.

Phân bố ca tử vong do VNVR theo tác nhân gây bệnh

Bảng 3.2. Phân bố các ca tử vong do VNVR theo tác nhân gây bệnh tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018

| Tác nhân | Số ca tử vong | Tỷ lệ % |
|------------------------|---------------|---------------|
| VNNB | 4 | 23,5% |
| Đông nhiễm VNNB - VRĐR | 1 | 5,9% |
| VRĐR | 1 | 5,9% |
| hCMV | 1 | 5,9% |
| Âm tính | 10 | 58,8% |
| Tổng | 17 | 100,0% |

Phát hiện 7 mẫu dương tính trong tổng số 17 ca tử vong do VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc năm 2017 – 2018, tỷ lệ dương tính trên tổng số tử vong là 41,2%. Trong đó, 4 mẫu dương tính với VNNB, chiếm tỷ lệ cao nhất - 23,5%; 1 mẫu đồng nhiễm VNNB – VRĐR, 1 mẫu dương tính với VRĐR và 1 mẫu dương tính với hCMV.

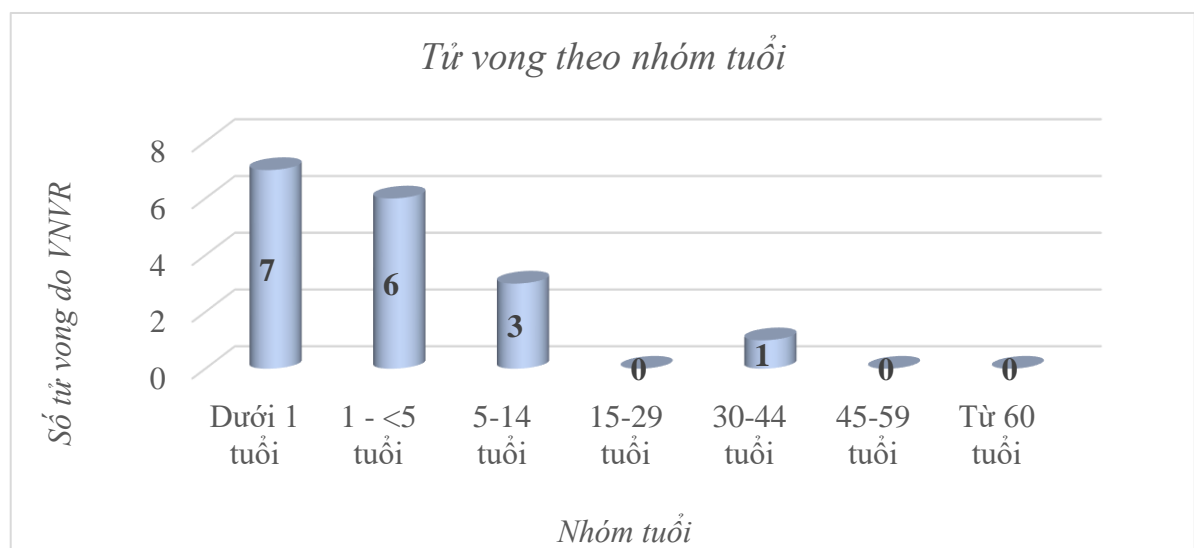
Phân bố ca tử vong do VNVR theo giới tính

Bảng 3.3. Tỷ lệ chết/mắc do VNVR theo giới tính tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017–2018

| Giới tính | Số tử vong | Số mắc | Tỷ lệ chết/mắc |
|-------------|------------|------------|----------------|
| Nam | 8 | 260 | 3,1% |
| Nữ | 9 | 213 | 4,2% |
| Tổng | 17 | 473 | 3,6% |

Trong tổng số 17 ca tử vong, có 8 ca là nam giới, 9 ca nữ giới, tỷ lệ chết/mắc của nam và nữ lần lượt là 3,1% và 4,2%.

Phân bố ca tử vong do VNVR theo nhóm tuổi



Hình 3.18. Phân bố ca tử vong do VNVR theo nhóm tuổi tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 (n=473)

Các ca tử vong chủ yếu là trẻ dưới 15 tuổi (16 trên tổng số 17 ca tử vong nằm trong độ tuổi này, chiếm 94,1%). Trong đó nhiều nhất là nhóm trẻ dưới 1 tuổi (7 ca chiếm 41,2%). Chỉ có 1 ca tử vong là người trưởng thành, ở độ tuổi 30 – 44 tuổi.

3.2. Một số tác nhân vi rút gây viêm não và sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

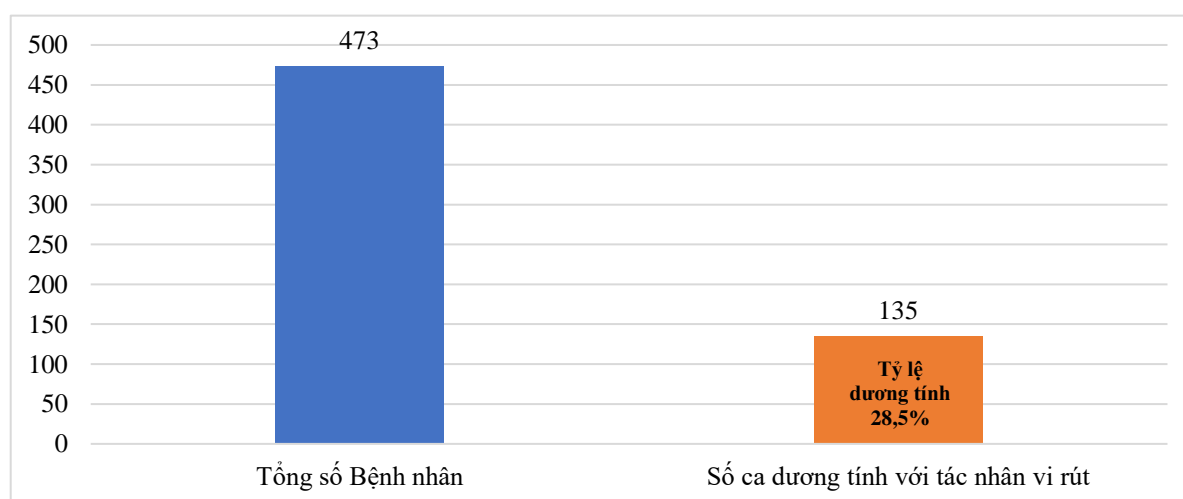
3.2.1. Một số tác nhân vi rút gây viêm não tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

Bảng 3.4. Phân bố các mẫu bệnh phẩm thu thập được theo loại bệnh phẩm tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018

| Loại mẫu thu thập | Số người bệnh (n=473) | | Tỷ lệ % |
|-------------------|-----------------------|--------|---------|
| | Số người bệnh | Số mẫu | |
| Mẫu máu | 473 | 393 | 83,1% |
| Mẫu dịch não tủy | 473 | 396 | 84,0% |
| Mẫu phân | 473 | 126 | 26,6% |

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành thu thập 3 loại mẫu đối với mỗi người bệnh, tuy nhiên trong thực tế triển khai nghiên cứu, một số người bệnh không thể lấy đủ cả 3 loại mẫu. Trong tổng số 473 người bệnh nghiên cứu, đã thu thập được 393 mẫu máu (83,1%); 396 mẫu dịch não tủy (84%) và 126 mẫu phân (26,6%).

3.2.1.1 Kết quả xét nghiệm tác nhân vi rút trên tổng số người bệnh nghiên cứu



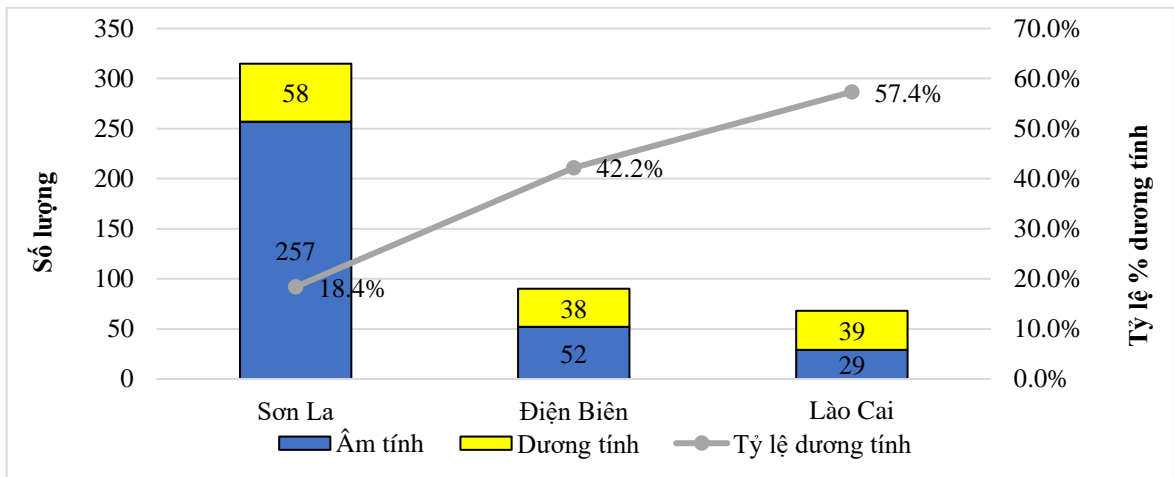
Hình 3.19. Kết quả xét nghiệm tác nhân vi rút ở người bệnh tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 (n = 473)

Trong tổng số 473 người bệnh đưa vào nghiên cứu đã phát hiện 135 ca dương tính với ít nhất một loại tác nhân vi rút. Tỷ lệ dương tính chung với các tác nhân vi rút phổ biến gây viêm não ở người bệnh Viêm não vi rút lâm sàng ở Tây Bắc trong năm 2017-2018 là 28,5%.

Bảng 3.5. Kết quả xét nghiệm tác nhân vi rút ở người bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018 (n = 473)

| Tác nhân | Dịch não tủy | | Huyết thanh | | Phân | | Tổng số dương tính / Tổng số ca bệnh (%) |
|------------------|--------------|------------|-------------|------------|-----------|------------|--|
| | Số mẫu XN | Dương tính | Số mẫu XN | Dương tính | Số mẫu XN | Dương tính | |
| VNNB | 396 | 79 (19,9%) | 393 | 89 (22,6%) | - | - | 105/468 (22,4%) |
| VRĐR | 173 | 4 (2,3%) | - | - | 126 | 34 (27,0%) | 38/265 (14,3%) |
| Dengue | - | | 69 | 1 (1,4%) | - | - | 1/69 (1,4%) |
| hCMV | 377 | 2 (0,53%) | - | - | - | - | 2/377 (0,53%) |
| HSV | 377 | 1 (0,26%) | - | - | - | - | 1/377 (0,26%) |
| Tổng cộng | | | | | | | 135/473 (28,5%) |

Tổng hợp kết quả xét nghiệm cả 3 loại mẫu bệnh phẩm cho thấy các tác nhân vi rút gây viêm não được phát hiện khá đa dạng bao gồm vi rút VNNB, VRĐR, vi rút HSV, vi rút Dengue, vi rút hCMV. Tỷ lệ dương tính với tác nhân vi rút VNNB là cao nhất (22,4%); tiếp theo là VRĐR (14,3%). Các tác nhân vi rút khác cũng được ghi nhận với tỷ lệ thấp bao gồm vi rút Dengue (1,4%), vi rút hCMV (0,53%) và vi rút HSV (0,27%).



Hình 3.20. Tỷ lệ dương tính với các tác nhân VNVR tại các tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017 – 2018

Tỷ lệ dương tính có sự khác biệt giữa các tỉnh. Tại Sơn La trong tổng số 315 người bệnh VNVR có 58 ca dương tính với ít nhất một trong các tác nhân vi rút được xét nghiệm, chiếm tỷ lệ 18,4% thấp nhất trong 3 tỉnh Tây Bắc. Trong khi đó, tại Điện Biên, tỷ lệ dương tính là 42,2% với 38 ca dương tính trên tổng số 90 người bệnh. Tỷ lệ dương tính cao nhất ghi nhận ở Lào Cai (57,4%) với 39 ca trên tổng số 68 người bệnh.

3.2.1.2. Các loại tác nhân phát hiện được trong các mẫu xét nghiệm tại từng tỉnh

Dẫn liệu tại Bảng 3.6 khi phân tích riêng tỷ lệ dương tính tại từng tỉnh theo các tác nhân xét nghiệm được, có thể thấy tỷ lệ dương tính với VNNB trên tổng số mẫu xét nghiệm tại Sơn La là 12,1% thấp nhất trong 3 tỉnh, cao nhất tại Lào Cai (49,2%), tại Điện Biên tỷ lệ này là 38,9%. Với tác nhân vi rút đường ruột, tỷ lệ dương tính trên tổng số mẫu xét nghiệm cao nhất tại Điện Biên (30,4%), tiếp theo là Lào Cai (19,6%), thấp nhất tại Sơn La (12,3%). Trong số mẫu bệnh phẩm thu được, các tác nhân vi rút Dengue, hCMV và HSV chỉ phát hiện được ở Sơn La với tỷ lệ thấp lần lượt là 1,7%; 0,7% và 0,35%.

Bảng 3.6. Kết quả xét nghiệm tác nhân vi rút ở người bệnh nghiên cứu tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai

| Tác nhân | Sơn La | | Điện Biên | | Lào Cai | | Tổng số dương tính / Tổng số ca bệnh (%) |
|-------------|------------|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------|--|
| | Số mẫu XN | Dương tính | Số mẫu XN | Dương tính | Số mẫu XN | Dương tính | |
| VNNB | 313 | 38 (12,1%) | 90 | 35 (38,9%) | 65 | 32 (49,2%) | 105/468 (22,4%) |
| VRĐR | 171 | 21 (12,3%) | 23 | 7 (30,4%) | 51 | 10 (19,6%) | 38/265 (14,3%) |
| Dengue | 59 | 1 (1,7%) | 8 | 0 (0%) | 2 | 0 (0%) | 1/69 (1,4%) |
| hCMV | 285 | 2 (0,7%) | 46 | 0 (0%) | 46 | 0 (0%) | 2/377 (0,53%) |
| HSV | 285 | 1 (0,35%) | 46 | 0 (0%) | 46 | 0 (0%) | 1/377 (0,26%) |
| Tổng | 315 | 58 (18,4%) | 90 | 38 (42,2%) | 68 | 39 (57,4%) | 135/473 (28,5%) |

3.2.1.3. Phân bố các loại tác nhân phát hiện được trong số mẫu dương tính

Bảng 3.7. Phân bố các loại tác nhân phát hiện được trong các mẫu dương tính

| TT | Tác nhân | Số mẫu dương tính | Tỷ lệ % |
|----|-----------------------------------|-------------------|-------------|
| 1 | VNNB | 93 | 68,9% |
| 2 | VRĐR | 26 | 19,3% |
| 3 | Dengue | 1 | 0,7% |
| 4 | hCMV | 2 | 1,5% |
| 5 | HSV | 1 | 0,7% |
| 6 | Đồng nhiễm VNNB - VRĐR | 12 | 8,9% |
| | Tổng số ca bệnh dương tính | 135 | 100% |

Kết quả xét nghiệm các mẫu bệnh phẩm cho thấy các tác nhân vi rút gây viêm não được phát hiện khá đa dạng bao gồm vi rút VNNB, VRĐR, vi rút HSV, vi rút Dengue, vi rút hCMV. Trong tổng số 135 mẫu dương tính, tỷ lệ dương tính với tác nhân vi rút VNNB là cao nhất chiếm 68,9%; tiếp theo là VRĐR chiếm 19,3% tổng số mẫu dương tính. Ghi nhận 12 mẫu đồng nhiễm vi rút VNNB và VRĐR, chiếm tỷ lệ 8,9% tổng số mẫu dương tính, trong đó không có mẫu VRĐR phát hiện trong dịch não tủy. Các tác nhân vi rút khác cũng được ghi nhận với tỷ lệ thấp bao gồm vi rút hCMV (1,5%), vi rút HSV (0,7%) và vi rút Dengue (0,7%).

Bảng 3.8. Phân bố các loại tác nhân vi rút phát hiện được trong các mẫu dương tính tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

| Tác nhân | Sơn La | | Điện Biên | | Lào Cai | |
|------------------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|
| | Số mẫu (+) | Tỷ lệ % | Số mẫu (+) | Tỷ lệ % | Số mẫu (+) | Tỷ lệ % |
| VNNB | 34 | 58,6% | 33 | 86,8% | 26 | 66,7% |
| VRĐR | 16 | 27,6% | 3 | 7,9% | 7 | 17,9% |
| Dengue | 1 | 1,7% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| hCMV | 2 | 3,4% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| HSV | 1 | 1,7% | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Đồng nhiễm VNNB - VRĐR | 4 | 6,9% | 2 | 5,3% | 6 | 15,4% |
| Tổng | 58 | 100% | 38 | 100% | 39 | 100% |

Ở cả 3 tỉnh, vi rút VNNB đều chiếm ưu thế so với các tác nhân khác. Trong đó, riêng tại Sơn La ghi nhận sự có mặt của cả 5 tác nhân viêm não là vi rút VNNB, VRĐR, vi rút HSV, vi rút hCMV và vi rút Dengue, trong đó vi rút VNNB chiếm tỷ lệ 58,6% (34 trên tổng số 56 mẫu dương tính), tác nhân VRĐR chiếm 27,6% với 16 mẫu dương tính. Phát hiện 4 mẫu đồng nhiễm vi rút VNNB và VRĐR chiếm 6,9% tổng số mẫu dương tính.

Điện Biên ghi nhận sự có mặt của 2 tác nhân là vi rút VNNB và VRĐR trong 38 mẫu dương tính, trong đó VNNB chiếm ưu thế với tỷ lệ 86,8% tổng số mẫu dương

tính. Ghi nhận 3 mẫu dương tính với VRĐR chiếm 7,9%. Có 2 mẫu đồng nhiễm vi rút VNNB và VRĐR chiếm 5,3% tổng số mẫu dương tính.

Lào Cai cũng ghi nhận sự có mặt của 2 tác nhân là vi rút VNNB và VRĐR, trong đó VNNB chiếm tỷ lệ cao, với 26 mẫu dương tính trên tổng số 39 mẫu dương tính chung chiếm 66,7% tổng số mẫu dương tính; phát hiện 7 mẫu dương tính với VRĐR chiếm 17,9%. Ghi nhận 6 mẫu đồng nhiễm vi rút VNNB và VRĐR, chiếm 15,4% tổng số mẫu dương tính.

3.2.1.4. Phân bố loại tác nhân theo loại mẫu bệnh phẩm

Bảng 3.9. Phân bố tác nhân ở các mẫu dịch não tủy có xét nghiệm dương tính

| Tác nhân xét nghiệm | Số lượng (n=86) | |
|---------------------|-----------------|-------------|
| | Số dương tính | Tỷ lệ % |
| VNNB | 79 | 91,9% |
| VRĐR | 4 | 4,6% |
| Vi rút hCMV | 2 | 2,3% |
| Vi rút HSV | 1 | 1,2% |
| Tổng số | 86 | 100% |

Theo số liệu ở bảng trên, khi phân tích sự phân bố tác nhân ở các mẫu dịch não tủy có xét nghiệm dương tính cho thấy tác nhân vi rút VNNB chiếm đa số với tỷ lệ 91,9%. Các tác nhân vi rút khác bao gồm VRĐR, vi rút hCMV và vi rút Herpes cũng được phát hiện với tỷ lệ thấp, lần lượt là 4,6%, 2,3% và 1,2%.

Bảng 3.10. Phân bố tác nhân ở các mẫu huyết thanh có xét nghiệm dương tính

| Tác nhân xét nghiệm | Số lượng (n=90) | |
|---------------------|-----------------|-------------|
| | Số dương tính | Tỷ lệ % |
| Viêm não Nhật Bản | 89 | 98,9% |
| Vi rút Dengue | 1 | 1,1% |
| Tổng số | 90 | 100% |

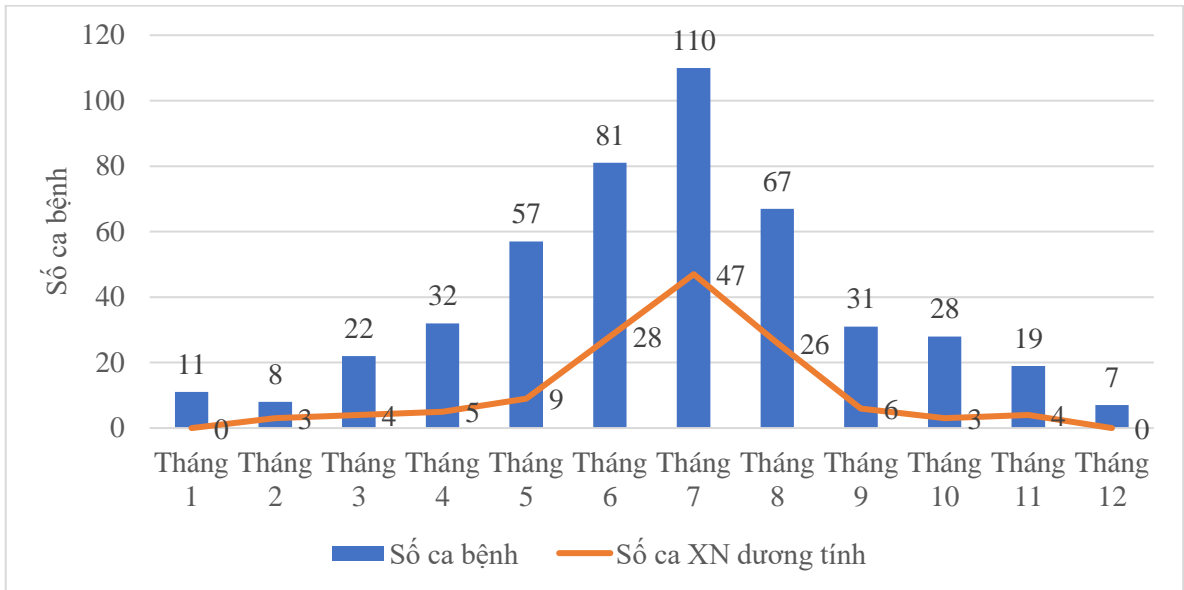
Các mẫu huyết thanh được tiến hành xét nghiệm với phương pháp ELISA để chẩn đoán 2 tác nhân là vi rút VNNB và vi rút Dengue. Trong tổng số 90 mẫu huyết thanh dương tính, 89 mẫu dương tính với vi rút VNNB chiếm 98,9%, có 1 mẫu dương tính với vi rút Dengue chiếm 1,1%.

Bảng 3.11. Phân bố tác nhân ở các mẫu phân có xét nghiệm dương tính

| Tác nhân VRĐR | Số lượng (n=34) | |
|---------------------|-----------------|-------------|
| | Số dương tính | Tỷ lệ % |
| CV-A6 | 4 | 11,8 |
| E-6 | 3 | 8,8 |
| EV-A71 | 3 | 8,8 |
| CV-A24 | 2 | 5,9 |
| CV-B5 | 2 | 5,9 |
| E-11 | 1 | 2,9 |
| CV-A10 | 1 | 2,9 |
| CV-A20 | 1 | 2,9 |
| E-18 | 1 | 2,9 |
| EV-B73 | 1 | 2,9 |
| EV-B80 | 1 | 2,9 |
| EV-C96 | 1 | 2,9 |
| PV-3 | 1 | 2,9 |
| VRĐR không xác định | 12 | 35,3 |
| Tổng số | 34 | 100% |

Các mẫu phân thu được trong nghiên cứu được tiến hành xét nghiệm RT-PCR, multiplex RT-PCR và snRT-PCR/sequencing tìm tác nhân VRĐR. Trong số 34 mẫu phân dương tính có 22 mẫu xác định thành công kiểu serotype VRĐR gồm 13 serotype: EV-A71, các virút Coxsackie A (CV-A6, 10, 20, 24), các vi rút ECHO (E-6, 11, 18), vi rút CV-B5, EV-B73, EV-B80, EV-C96 và PV-3. Kiểu VRĐR nổi trội nhất là CV-A6 chiếm 11,8% tổng số mẫu được định tít, tiếp theo là E-6 và EV-A71 (cùng chiếm 8,8%) và ba serotype CV-A24, CV-B5 (cùng chiếm 5,9%).

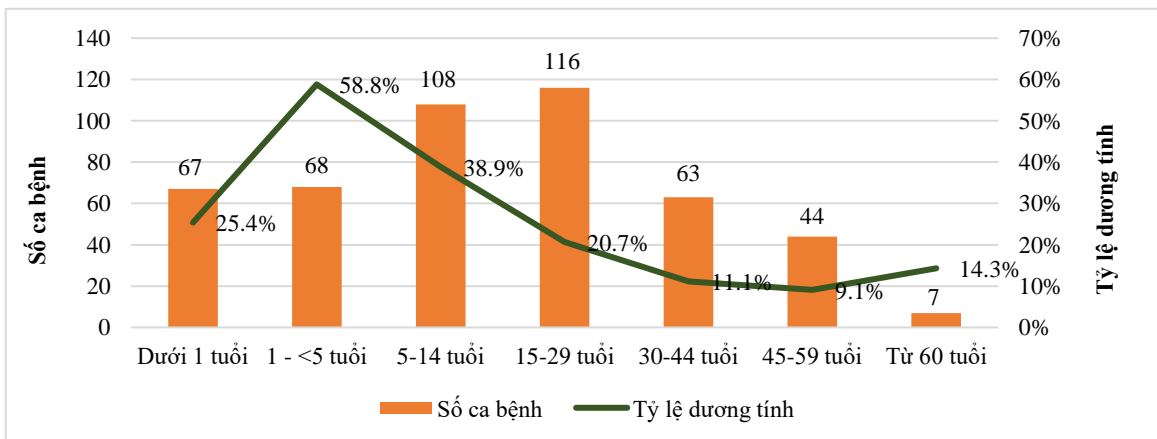
3.2.1.5. Phân bố số mẫu dương tính theo tháng



Hình 3.21. Phân bố tỷ lệ dương tính theo tháng, 3 tỉnh Tây Bắc, 2017 – 2018

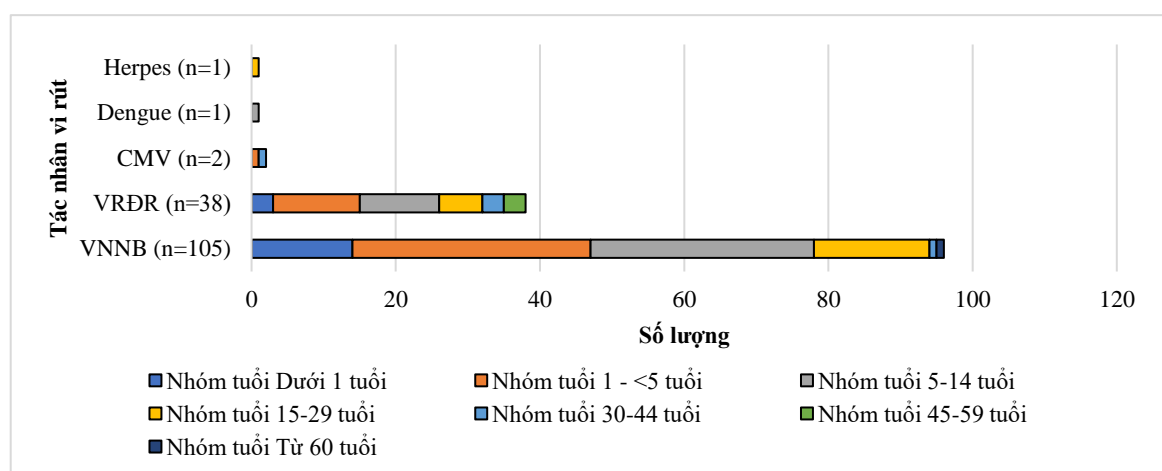
Các mẫu dương tính được phát hiện từ tháng 2 đến tháng 11. Trong đó, phát hiện nhiều nhất là trong giai đoạn tháng 6 – tháng 8, đỉnh điểm vào tháng 7 với 47 mẫu dương tính. Tỷ lệ dương tính cao nhất cũng rơi vào tháng 7 (42,7% trên tổng số 110 mẫu) tiếp theo là tháng 8 với tỷ lệ 38,8% và tháng 6 với tỷ lệ 34,6%. Tháng 1 và tháng 12 không ghi nhận ca bệnh dương tính với các tác nhân được xét nghiệm.

3.2.1.6. Phân bố mẫu dương tính theo nhóm tuổi



Hình 3.22. Phân bố tỷ lệ dương tính theo nhóm tuổi, 3 tỉnh Tây Bắc, 2017–2018

Ca dương tính ghi nhận ở tất cả các nhóm tuổi mắc bệnh. Trong đó, tỷ lệ dương tính cao nhất ở nhóm trẻ từ 1 – 5 tuổi (58,8%) sau đó là nhóm trẻ 5 – 14 tuổi (38,9%). Tỷ lệ dương tính thấp nhất ở nhóm từ 45 – 59 tuổi (9,1%).



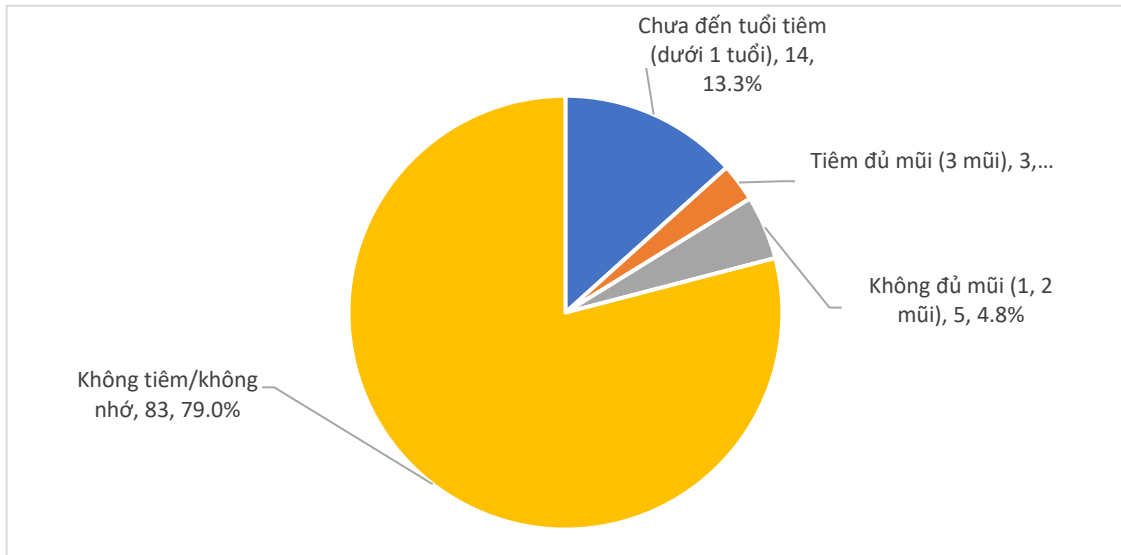
| Tác nhân | VNNB (n=105) | VRDR (n=38) | hCMV (n=2) | Dengue (n=1) | HSV (n=1) |
|-----------------------------|-----------------|----------------|---------------|-----------------|--------------|
| Dưới 1 tuổi | 14 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| 1 - <5 tuổi | 33 | 12 | 1 | 0 | 0 |
| 5-14 tuổi | 31 | 11 | 0 | 1 | 0 |
| Nhóm tuổi 15-29 tuổi | 16 | 6 | 0 | 0 | 1 |
| 30-44 tuổi | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| 45-59 tuổi | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Từ 60 tuổi | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Hình 3.23. Phân bố tỷ lệ dương tính theo nhóm tuổi và tác nhân gây bệnh (n=123)

Tác nhân vi rút VNNB phân bố ở gần như tất cả các nhóm tuổi, nhưng tập trung cao ở nhóm trẻ nhỏ, trẻ từ 1 – dưới 5 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (31,4%), tiếp theo là nhóm 5-14 tuổi (29,5%), đặc biệt có tỷ lệ cao dương tính VNNB ở trẻ dưới 1 tuổi (14 ca dương tính, 13,3%) và người 15 – 29 tuổi (16 ca, 15,2%).

Với VRDR, tỷ lệ dương tính cũng ghi nhận nhiều ở trẻ dưới 5 tuổi (31,6%) và trẻ 5 – 14 tuổi (28,9%). Ghi nhận 1 mẫu dương tính với hCMV ở nhóm 1 – 5 tuổi và 1 mẫu ở người trưởng thành 30 – 44 tuổi. Mẫu HSV dương tính ghi nhận ở ca bệnh 15 – 29 tuổi. Mẫu dương tính với Dengue là người bệnh thuộc nhóm 5 – 14 tuổi.

3.2.1.7. Tiền sử tiêm chủng của các ca dương tính với VNNB



Hình 3.24. Tiền sử tiêm chủng của các ca dương tính với VNNB (n = 105)

Trong tổng số 105 ca dương tính với vi rút VNNB chỉ ghi nhận 3 ca tiêm chủng đầy đủ 3 mũi vắc xin phòng VNNB (2,9%). Các ca còn lại là không tiêm chủng/không nhớ (79%), tiêm không đủ mũi (4,8%) và chưa đến tuổi tiêm chủng (13,3%).

3.2.2. Sự có mặt của muỗi truyền bệnh VNNB tại khu vực nghiên cứu

3.2.2.1. Thành phần các loài muỗi tại các điểm nghiên cứu

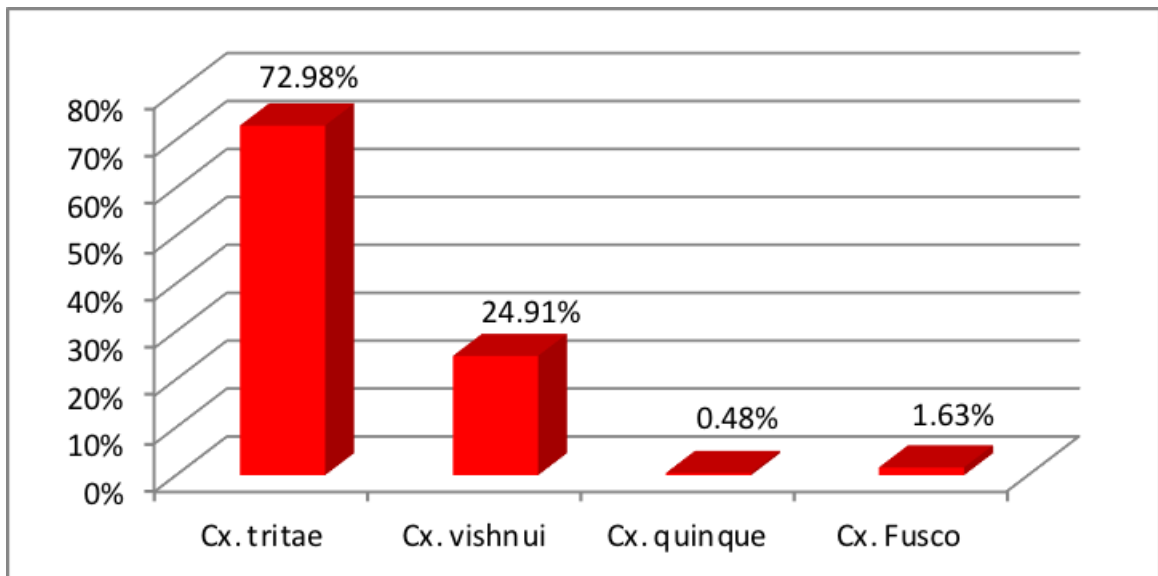
3.2.2.1.1. Các loại muỗi thu thập được tại điểm nghiên cứu

Bảng 3.12. Các loài muỗi thu thập được tại các điểm nghiên cứu

| Stt | Tên loài muỗi | Tỉnh | | | | | | | |
|----------------|------------------------------|--------------------------------------|------------|----------------------------|------------|--------------------------|------------|-------------|------------|
| | | Sơn La (n_1 nhà điều tra= 120) | | Điện Biên ($n_2=120$) | | Lào Cai ($n_3=120$) | | Tổng số | |
| | | Số muỗi | Tỷ lệ % | Số muỗi | Tỷ lệ % | Số muỗi | Tỷ lệ % | Số muỗi | Tỷ lệ % |
| 1 | <i>Cx. tritaeniorhynchus</i> | 167 | 29,67 | 995 | 63,83 | 676 | 46,59 | 1838 | 51,06 |
| 2 | <i>Cx. vishnui</i> | 5 | 0,9 | 239 | 15,3 | 383 | 25,9 | 627 | 17,42 |
| 3 | <i>Cx. quinquefasciatus</i> | 10 | 2,0 | 2 | 0,12 | 1 | 0 | 13 | 0,36 |
| 4 | <i>Cx. fuscocephalus</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 42 | 2,8 | 42 | 1,17 |
| 5 | <i>Ar. kuchingensis</i> | 68 | 11,73 | 11 | 0,7 | 16 | 1,0 | 95 | 2,64 |
| 6 | <i>An. vagus</i> | 312 | 55,4 | 310 | 19,8 | 349 | 23,6 | 971 | 26,97 |
| 7 | <i>Ma. indiana</i> | 1 | 0,3 | 3 | 0,19 | 7 | 0,04 | 11 | 0,31 |
| 8 | <i>Ae. albopictus</i> | 0 | 0 | 1 | 0,06 | 2 | 0,07 | 3 | 0,08 |
| Tổng số | | 563 | 100 | 1.561 | 100 | 1.476 | 100 | 3600 | 100 |

Kết quả thu thập muỗi cho thấy có 8 loài muỗi được ghi nhận tại điểm nghiên cứu thuộc 5 giống. Số cá thể muỗi ghi nhận nhiều nhất là giống *Culex* (Cx), trong đó 1.838 *Cx. tritaeniorhynchus* (51,06%), 627 *Cx. vishnui* (17,42%), 42 *Cx. fuscocephalus* (1,17%), 13 *Cx. quinquefasciatus* (0,36%). Tiếp theo là 971 *Anopheles vagus* (26,97%), 95 *Armigeres kuchigensis* (2,64%), 11 *Mansonia indiana* (0,31%) và 3 *Aedes albopictus* (0,08%). Số muỗi thu được nhiều nhất tại tỉnh Điện Biên với 1.561 cá thể (43,4%), tiếp theo là Lào Cai 1.476 cá thể (41,2%), thấp nhất tại tỉnh Sơn La 563 cá thể (15,6%).

3.2.2.1.2. Sự có mặt của các loài muỗi véc tơ truyền bệnh VNNB (muỗi *Culex*) tại các điểm nghiên cứu

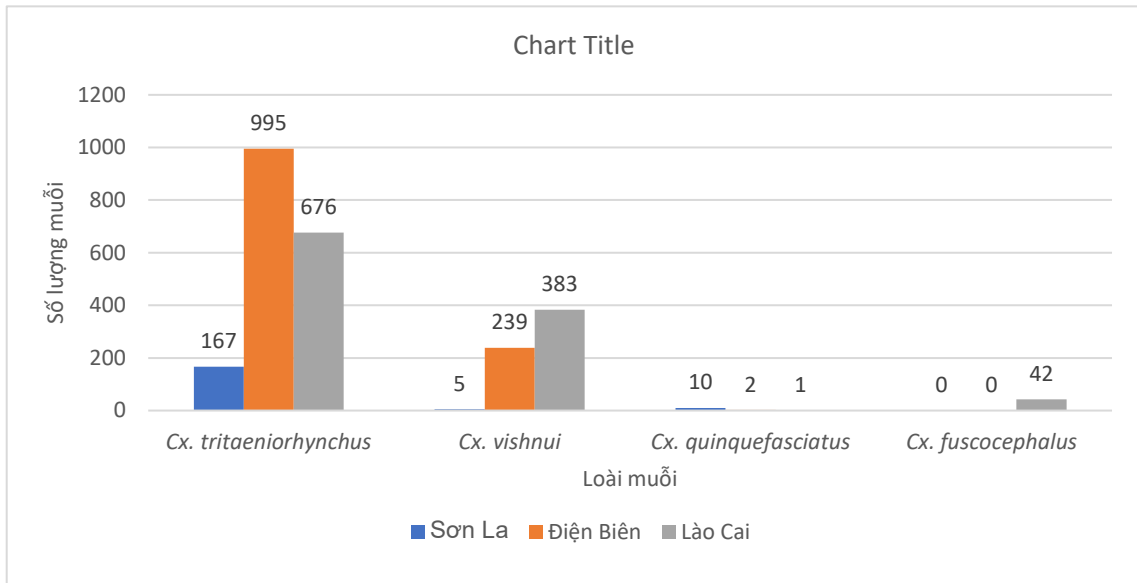


Hình 3.25. Tỷ lệ muỗi thuộc giống *Culex* (Cx.) tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2018

Kết quả điều tra cho thấy đã ghi nhận 4 loài muỗi thuộc giống *Culex* trong đó có 3 loài có khả năng truyền bệnh VNNB là *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. vishnui* và *Cx. fuscocephalus* tại các địa điểm nghiên cứu. Muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* chiếm tỷ lệ cao nhất 72,98%, tiếp theo là *Cx. vishnui* 24,91% (hai loài muỗi chính truyền VNNB). Các loài muỗi *Cx. quinquefasciatus* và *Cx. fuscocephalus* chiếm tỷ lệ rất thấp (0,48 và 1,63%).

3.2.2.2. Sự phân bố muỗi giống *Culex* tại các điểm nghiên cứu

3.2.2.2.1. Phân bố muỗi *Culex* theo loài tại các điểm nghiên cứu

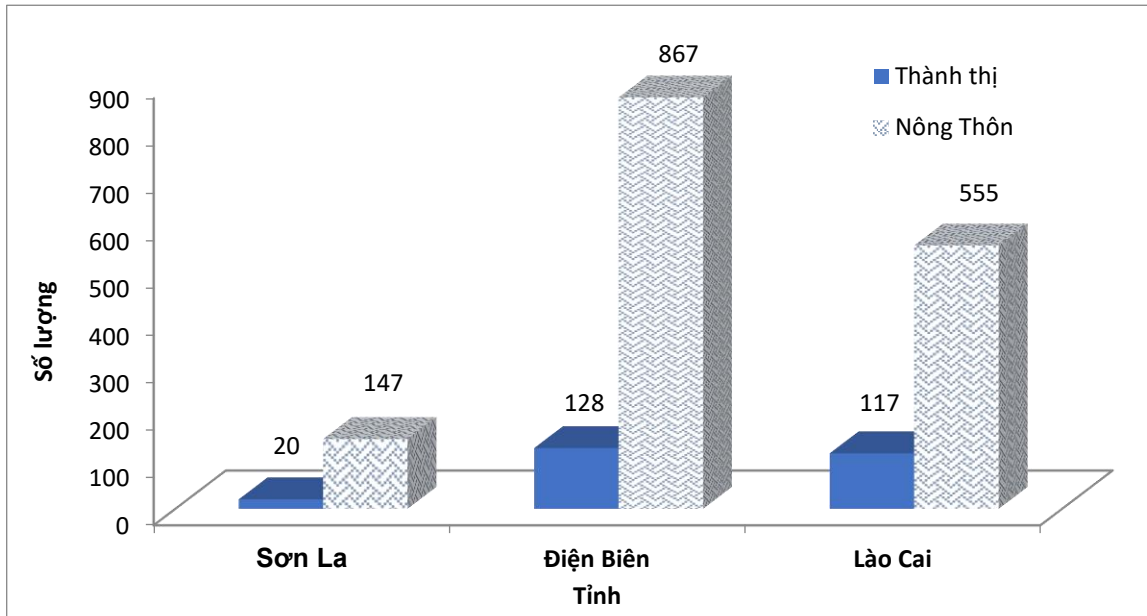


Hình 3.26. Phân bố số lượng các loài muỗi *Culex* thu thập được tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2018

Số lượng muỗi *Culex* thu thập được ở tại Điện Biên là nhiều nhất, sau đó đến Lào Cai và ít nhất là tại Sơn La. Đặc biệt là có các loài muỗi được ghi nhận là véc tơ truyền bệnh VNNB như *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. vishnui* và *Cx. fuscocephalus*. Muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* có số lượng vượt trội hơn so với 3 loài muỗi *Culex* còn lại; ít nhất là *Cx. quinquefasciatus* và *Cx. fuscocephalus*. Tại Sơn La và Điện Biên không ghi nhận sự xuất hiện của muỗi *Cx. fuscocephalus*.

3.2.2.2.2. Phân bố muỗi *Culex* theo địa dư và sinh cảnh tại các điểm nghiên cứu

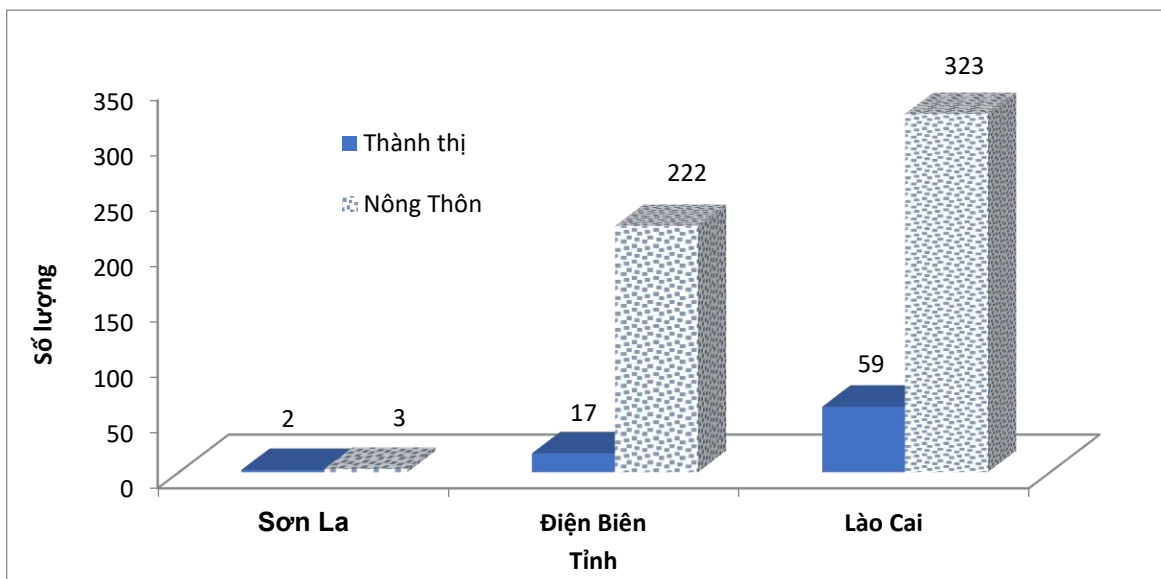
- Muỗi *Cx. tritaeniorhynchus*



Hình 3.27. Phân bố số lượng muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2018

Ở khu vực nông thôn muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* được ghi nhận với số lượng rất cao, cao nhất tại Điện Biên, sau đó đến Lào Cai và ít nhất là Sơn La. Trong khi đó số lượng muỗi này ghi nhận ít hơn ở khu vực thành thị.

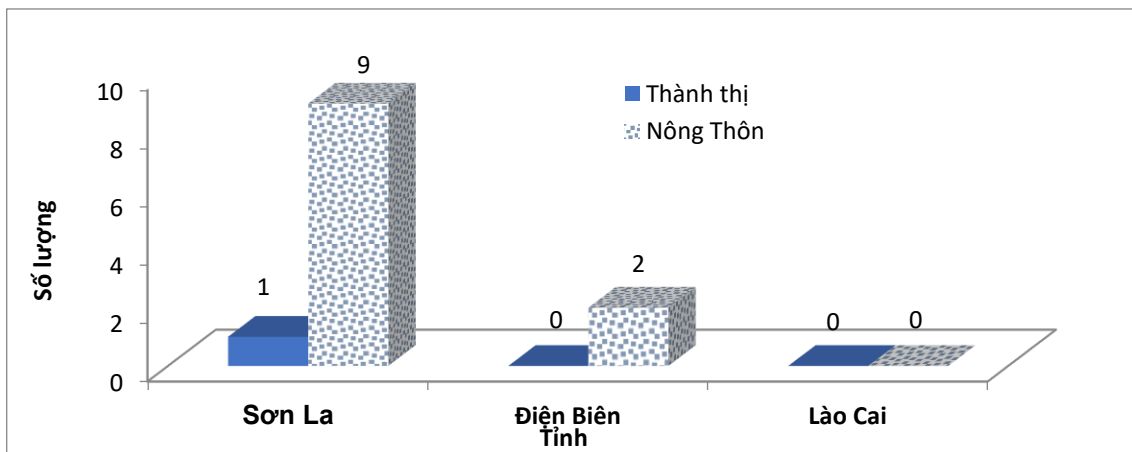
- Muỗi *Cx. vishnui*



Hình 3.28. Phân bố số lượng muỗi *Cx. vishnui* theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2018

Ở khu vực nông thôn muỗi *Cx. vishnui* được ghi nhận với số lượng cao tại Lào Cai, sau đó đến Điện Biên và ít nhất là Sơn La. Trong khi đó số lượng muỗi này ghi nhận không đáng kể ở khu vực thành thị.

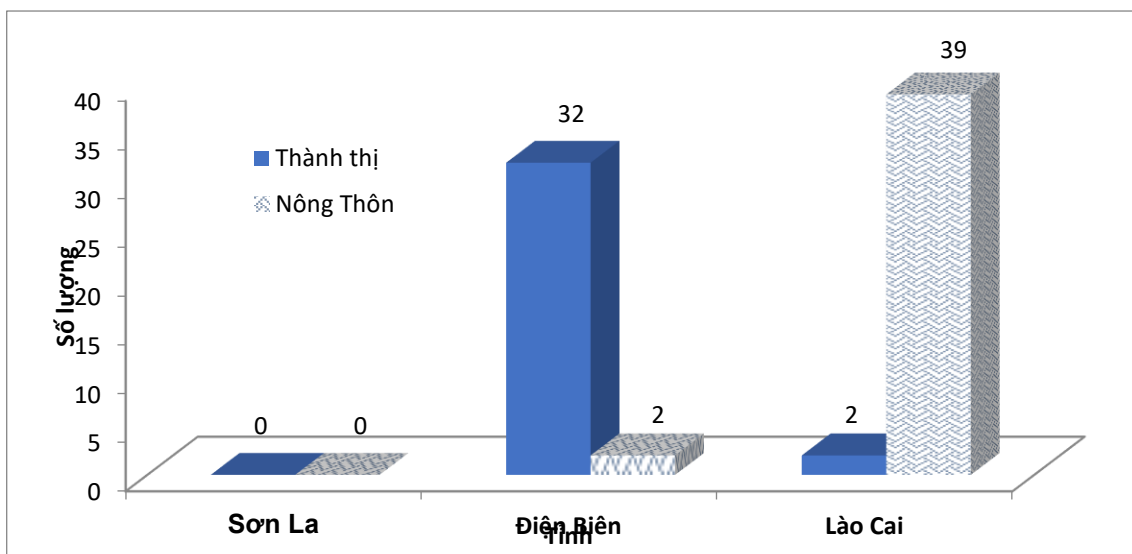
- Muỗi *Cx. quinquefasciatus*



Hình 3.29. Phân bố số lượng muỗi *Cx. quinquefasciatus* theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2018

Cả hai khu vực nông thôn và thành thị đều ghi nhận số lượng muỗi *Cx. quinquefasciatus* với số lượng rất thấp. Đặc biệt ở khu vực thành thị của Điện Biên và cả 2 sinh cảnh của Lào Cai không ghi nhận sự có mặt của loài muỗi này.

- Muỗi *Cx. fuscocephalus*



Hình 3.30. Phân bố số lượng muỗi *Cx. fuscocephalus* theo địa dư tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2018

Cả 2 khu vực nông thôn và thành thị đều ghi nhận số lượng muỗi *Cx. fuscocephalus* với số lượng rất thấp. Đặc biệt tại Sơn La không ghi nhận thấy sự có mặt của loài muỗi này.

3.2.2.3. Mật độ các loài muỗi *Culex* và bọ gậy tại các điểm nghiên cứu

3.2.2.3.1. Mật độ các loài muỗi *Culex* tại các điểm nghiên cứu

Bảng 3.13. Chỉ số mật độ các loài muỗi *Culex* thu thập trên thực địa, 2018

| Tỉnh | CSMĐ <i>Cx. tritaeniorhynchus</i> | | CSMĐ <i>Cx. vishnui</i> | | CSMĐ <i>Cx. quinquefasciatus</i> | | CSMĐ <i>Cx. fuscocephalus</i> | |
|-------------------|--------------------------------------|----------------|----------------------------|----------------|-------------------------------------|----------------|----------------------------------|----------------|
| | Trong nhà | Chuồng gia súc | Trong nhà | Chuồng gia súc | Trong nhà | Chuồng gia súc | Trong nhà | Chuồng gia súc |
| Sơn La | 0,36 | 3,36 | 0,00 | 0,12 | 0,16 | 0,06 | 0,00 | 0,00 |
| Điện Biên | 0,82 | 21,28 | 0,16 | 5,16 | 0,00 | 0,04 | 0,08 | 0,66 |
| Lào Cai | 0,78 | 13,34 | 0,94 | 7,74 | 0,00 | 0,00 | 0,02 | 0,88 |
| Trung bình | 0,65 | 12,68 | 0,36 | 4,28 | 0,05 | 0,03 | 0,03 | 0,52 |

Số liệu trong Bảng 3.13 cho thấy, muỗi *Culex* có chỉ số mật độ cao ở chuồng gia súc, đặc biệt là *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui*. Trung bình mật độ *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* ở chuồng gia súc cao hơn ở trong nhà lần lượt là 19,5 và 11,8 lần. *Cx. tritaeniorhynchus* có mật độ cao nhất tại Điện Biên, tiếp theo là Lào Cai và thấp nhất tại Sơn La. Đối với *Cx. vishnui* chỉ số mật độ cao nhất tại Lào Cai, tiếp theo là Điện Biên và thấp nhất tại Sơn La. Các loài *Cx. quinquefasciatus* và *Cx. fuscocephalus* có mật độ thấp hơn nhiều so với hai loài muỗi chính truyền VNNB.

3.2.2.3.2. *Bọ gậy muỗi Culex trong các thủy vực tại các điểm nghiên cứu*

Bảng 3.14. Phân bố bọ gậy của muỗi Culex theo thủy vực trên thực địa, 2018

| Loài bọ gậy | Số thủy vực ($n = 244$) | | | |
|------------------------------|---------------------------------|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| | Ruộng lúa nước ($n_1=110$) | Mương nước ($n_2=36$) | Vũng nước đọng ($n_3=57$) | DCCN tại hộ gia đình ($n_4=31$) |
| | Số lượng bọ gậy | Số lượng bọ gậy | Số lượng bọ gậy | Số lượng bọ gậy |
| <i>Cx. tritaeniorhynchus</i> | 929 | 115 | 21 | 71 |
| <i>Cx. vishnui</i> | 639 | 6 | 0 | 7 |
| <i>Cx. quinquefasciatus</i> | 9 | 99 | 564 | 213 |
| <i>Cx. fuscocephalus</i> | 8 | 0 | 0 | 1 |

Thu thập bọ gậy ở 244 thủy vực tại 3 tỉnh, bao gồm 110 ruộng lúa nước; 36 mương dẫn nước; 57 vũng nước đọng và 31 dụng cụ chứa nước của người dân. Kết quả cho thấy có sự hiện diện bọ gậy của 4 loài muỗi: *Cx. tritaeniorhynchus*; *Cx. vishnui*; *Cx. quinquefasciatus* và *Cx. fuscocephalus*. Tỷ lệ các thủy vực ruộng lúa nước, mương dẫn nước, vũng nước đọng và dụng cụ chứa nước của người dân có bọ gậy Culex lần lượt là 81,8%; 47,2%; 1,1% và 2,0%. Trong đó, bọ gậy *Cx. tritaeniorhynchus* có mặt ở tất cả các chủng loại thủy vực và có số lượng cao nhất, tập trung chủ yếu ở ruộng lúa nước. Tiếp theo là bọ gậy *Cx. vishnui* phân bố chủ yếu tại ruộng lúa nước, có mặt ở các mương nước và DCCN gia đình. *Cx. quinquefasciatus* phân bố ở tất cả các chủng loại thủy vực, tập trung chủ yếu ở vũng nước đọng và DCCN gia đình. *Cx. fuscocephalus* có mặt ở ruộng lúa nước và DCCN gia đình nhưng với số lượng và mật độ không đáng kể.

3.2.2.4. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sự hiện diện của muỗi Culex và bọ gậy

Bảng 3.15. Một số yếu tố liên quan đến số lượng muỗi Culex trên thực địa, 2018

| Nơi điều tra | | Số lượng muỗi thu được (<i>n</i> số hộ gia đình điều tra= 360) | | | |
|--------------|--------------------|---|--------------------|-----------------------------|--------------------------|
| | | <i>Cx. tritaeniorhynchus</i> | <i>Cx. vishnui</i> | <i>Cx. quinquefasciatus</i> | <i>Cx. fuscocephalus</i> |
| Nơi bắt muỗi | Chuồng trâu/bò | 856 | 341 | 2 | 15 |
| | Chuồng lợn | 636 | 165 | 3 | 24 |
| | Chuồng ngan/gà/vịt | 219 | 71 | 0 | 0 |
| | Nhà ở | 123 | 49 | 7 | 2 |
| | p | < 0,01 | < 0,01 | > 0,01 | < 0,01 |
| Vùng dân cư | Nông thôn | 1569 | 548 | 11 | 42 |
| | Thành thị | 265 | 78 | 1 | 34 |
| | p | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 |

Dẫn liệu ở bảng trên cho thấy có sự khác biệt về số lượng muỗi thu thập được theo nơi bắt muỗi, vùng dân cư. Tỷ lệ muỗi bắt được rất cao tại chuồng trâu/bò, tiếp theo là chuồng lợn, chuồng gia cầm (vịt, gà...) và ít nhất ở trong nhà ($P < 0,01$). Tỷ lệ muỗi bắt được rất cao ở nông thôn so với ở thành thị ($P < 0,01$).

Bảng 3.16. Yếu tố liên quan đến số lượng bọ gây tại ruộng lúa nước, 2018

| Các yếu tố liên quan | | Số lượng bọ gây thu được (số thủy vực điều tra = 110) | | | |
|------------------------------|---------------------------|---|-----------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| | | Cx. <i>tritaeniorhynchus</i> | Cx. <i>vishnui</i> | Cx. <i>quinquefasciatus</i> | Cx. <i>fuscocephalus</i> |
| Mức nước tại thủy vực | Chiều cao mực nước > 10cm | 264 | 124 | 0 | 0 |
| | Chiều cao mực nước < 10cm | 665 | 515 | 9 | 8 |
| | P | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 |
| Cây thủy sinh | Cây thủy sinh (+) | 731 | 601 | 9 | 8 |
| | Cây thủy sinh (-) | 118 | 38 | 0 | 0 |
| | P | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 | < 0,01 |

Dẫn liệu ở Bảng 3.16 cho thấy số lượng bọ gây muỗi thu thập được tại các thủy vực có mực nước thấp hơn 10 cm nhiều hơn ở các thủy vực có mực nước trên 10 cm. Tương tự tại các thủy vực có cây thủy sinh thu thập được số lượng bọ gây cao hơn thủy vực không có cây thủy sinh ($P < 0,01$).

3.3. Chi phí điều trị trực tiếp liên quan đến y tế của người bệnh Viêm não vi rút tại các cơ sở y tế ở 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

Tổng số có 473 người bệnh VNNB trong giai đoạn này. Sau khi loại các ca tử vong, 456 người khỏi bệnh được chọn vào nghiên cứu chi phí điều trị trực tiếp liên quan đến y tế.

Bảng 3.17. Thông tin chung của đối tượng nghiên cứu (n = 456)

| Thông tin | Điện Biên | | Lào Cai | | Sơn La | | Chung | |
|-------------------------|-----------|--------------|-----------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|
| | SL | % | SL | % | SL | % | SL | % |
| Độ tuổi | | | | | | | | |
| < 5 tuổi | 37 | 44,6 | 31 | 47,0 | 37 | 12,0 | 105 | 23,3 |
| 5- <15 tuổi | 17 | 20,5 | 18 | 27,3 | 89 | 29,0 | 124 | 27,2 |
| 15 - 45 tuổi | 21 | 25,3 | 12 | 18,2 | 146 | 47,6 | 179 | 39,2 |
| >45 tuổi | 8 | 9,6 | 5 | 7,6 | 35 | 11,4 | 48 | 10,5 |
| Giới tính | | | | | | | | |
| Nam | 52 | 62,6 | 31 | 47,0 | 169 | 55,0 | 252 | 55,3 |
| Nữ | 31 | 37,4 | 35 | 53,0 | 138 | 45,0 | 203 | 44,7 |
| Dân tộc | | | | | | | | |
| Kinh | 40 | 48,2 | 9 | 13,6 | 5 | 1,6 | 54 | 11,8 |
| Dân tộc khác | 43 | 51,8 | 57 | 86,4 | 302 | 98,4 | 402 | 88,2 |
| Trình độ học vấn | | | | | | | | |
| Không đi học | 8 | 19,0 | 12 | 20,0 | 4 | 1,3 | 24 | 5,9 |
| Học hết tiểu học | 11 | 26,2 | 23 | 38,3 | 30 | 9,9 | 64 | 15,8 |
| Học hết THCS | 19 | 45,2 | 18 | 30,0 | 79 | 26,2 | 116 | 28,7 |
| Học hết THPT | 3 | 7,1 | 2 | 3,3 | 157 | 52,0 | 162 | 40,1 |
| CD/ĐH | 1 | 2,4 | 5 | 8,3 | 32 | 10,6 | 38 | 9,4 |
| Trên đại học | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 |
| Nghề nghiệp | | | | | | | | |
| Còn nhỏ | 38 | 45,8 | 38 | 57,6 | 59 | 19,2 | 135 | 29,6 |
| Học sinh/sinh viên | 0 | 0 | 6 | 9,1 | 129 | 42,0 | 135 | 29,6 |
| Nông dân | 17 | 20,5 | 15 | 22,7 | 93 | 30,3 | 125 | 27,4 |
| Khác | 28 | 33,7 | 7 | 10,6 | 26 | 8,5 | 61 | 13,4 |
| Tổng cộng | 83 | 100,0 | 66 | 100,0 | 307 | 100,0 | 456 | 100,0 |

Trong tổng số 456 đối tượng nghiên cứu, nhóm trẻ có độ tuổi dưới 15 chiếm tỷ lệ cao nhất (50,5%), trong đó ở Điện Biên 65,1%, Lào Cai 74,3% và thấp nhất ở Sơn La 41,0%. Nhóm 15-45 tuổi chiếm 39,2%, với tỷ lệ cao hơn ở Sơn La (47,6%) so với

2 tỉnh còn lại. Nhóm trên 45 tuổi chiếm tỷ lệ thấp nhất (10,5%). Tỷ lệ người bệnh là nam giới (55,3%) cao hơn so với nữ giới (44,7%), sự chênh lệch rõ rệt nhất ở Điện Biên (62,6% so với 37,4%).

Đa số đối tượng nghiên cứu là người dân tộc thiểu số (88,2%) trong đó cao nhất ở Sơn La (98,4%), tiếp đến là Lào Cai (86,4%) và Điện Biên (51,8%).

Có 40,1% đối tượng có trình độ học vấn THPT, cao nhất ở Sơn La (52,0%), ở Điện Biên và Lào Cai có tỷ lệ thấp (tương ứng 7,1% và 3,3%). Ngược lại, ở hai tỉnh này chủ yếu là THCS trở xuống (90,4% ở Điện Biên và 88,3% ở Lào Cai).

Tỷ lệ người bệnh nhỏ tuổi chưa đi học: 29,6 %, trong đó ở Điện Biên 45,8%, Lào Cai 57,6 %, và Sơn La 19,2 %. 29,6% người bệnh đang là học sinh/sinh viên, tập trung ở Sơn La (42,0 %). Tỷ lệ có nghề nghiệp là nông dân chiếm 27,4 %.

Bảng 3.18. Thông tin về tình trạng bệnh của đối tượng nghiên cứu

| Tình trạng bệnh | Điện Biên | | Lào Cai | | Sơn La | | Chung | |
|-----------------|-----------|-------|---------|-------|--------|-------|-------|-------|
| | SL | % | SL | % | SL | % | SL | % |
| Khỏi bệnh | 75 | 90.4% | 60 | 90.9% | 276 | 89.9% | 411 | 90.1% |
| Di chứng | 8 | 9.6% | 6 | 9.1% | 31 | 10.1% | 45 | 9.9% |
| Tổng cộng | 83 | 100,0 | 66 | 100,0 | 307 | 100,0 | 456 | 100,0 |

Kết quả điều trị cho thấy trong số người bệnh còn sống thì hầu hết (90,1%) đều khỏi bệnh, dao động từ 89,9% đến 90,9% giữa các tỉnh. Tuy nhiên có 9,9% người bệnh để lại di chứng.

Bảng 3.19. Số ngày điều trị trung bình theo nơi điều trị

| Nơi điều trị | Trung bình | Trung vị | Cao nhất | Thấp nhất |
|------------------------------------|------------|----------|-----------|-----------|
| Tại bệnh viện huyện | 8,4 | 9 | 17 | 1 |
| Tại bệnh viện tỉnh | 9,8 | 9 | 58 | 1 |
| Số ngày điều trị trung bình | 9,7 | 9 | 58 | 1 |

Trung bình mỗi người bệnh điều trị trong vòng 9,7 ngày cho bệnh VNVR, trong đó ở bệnh viện tỉnh cao hơn so với bệnh viện huyện (9,8 ngày và 8,4 ngày). Số

ngày điều trị cao nhất lên tới 58 ngày đối với bệnh viện tỉnh và 17 ngày đối với bệnh viện huyện.

3.3.1. Chi phí trực tiếp cho điều trị Viêm não vi rút

Bảng 3.20. Chi phí điều trị theo tuyến điều trị

Đơn vị tính: VND

| Chi phí điều trị | Trung bình | SD | Trung vị | Thấp nhất | Cao nhất |
|-------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|
| Tại BV huyện | 5.203.333 | 2.349.986 | 4.131.977 | 2.777.265 | 10.546.786 |
| Tại BV tỉnh | 8.174.104 | 8.838.778 | 5.867.518 | 2.658.390 | 102.275.320 |
| Chi phí cho cả đợt | 8.010.875 | 8.635.579 | 5.844.793 | 2.658.390 | 102.275.320 |
| <i>BHYT chi trả</i> | <i>7.596.576</i> | <i>8.601.578</i> | <i>5.491.865</i> | <i>0</i> | <i>102.275.320</i> |
| <i>Tự chi trả</i> | <i>414.299</i> | <i>1.069.683</i> | <i>0</i> | <i>0</i> | <i>9.304.963</i> |

Dẫn liệu Bảng 3.20 cho thấy chi phí điều trị trung bình cho mỗi người bệnh là 8.010.875 đồng, cao nhất là 102.275.320 đồng. Do khoảng cách giữa chi phí thấp nhất và cao nhất rất cao nên độ lệch chuẩn (SD) cao (8.635.579 đồng). Chi phí điều trị của người bệnh ở trung vị là 5.844.793 đồng.

Trong tổng chi phí trực tiếp cho điều trị bệnh, người bệnh chỉ phải chi trả 414.299 đồng, tương đương với 5,2%, số tiền còn lại (94,8%, tương đương 7.596.576 đồng) được nhà nước hỗ trợ thông qua bảo hiểm y tế.

Dẫn liệu tại Bảng 3.21 cho thấy chi phí thuốc, máu, dịch truyền cao nhất (3.358.140 đồng, 41,9% tổng chi phí), tiếp đến là chi phí giường bệnh (2.349.215 đồng, 29,3%), chi phí cận lâm sàng (1.154.749 đồng, 14,4%), chi phí thủ thuật (829.674 đồng, 10,4%). Các chi phí khác bao gồm vật tư tiêu hao, vận chuyển, ... chiếm tỷ lệ thấp (4,0%).

Bảng 3.21. Chi phí trực tiếp cho điều trị VNVR theo các hạng mục y tế*Đơn vị tính: VNĐ*

| Chi phí điều trị | Trung bình | SD | Trung vị | Thấp nhất | Cao nhất |
|---------------------------|------------------|------------------|-----------|-----------|--------------------|
| Giường bệnh | 2.349.215 | 2.030.586 | 1.949.000 | 99.550 | 25.607.400 |
| Cận lâm sàng | 1.154.749 | 1.270.147 | 804.100 | 39.200 | 10.594.500 |
| Thuốc, máu, dịch truyền | 3.358.140 | 3.974.314 | 2.424.912 | 9.335 | 44.552.357 |
| Vật tư tiêu hao | 228.927 | 221.902 | 171.270 | 25.053 | 2.307.798 |
| Thủ thuật | 829.674 | 2.838.981 | 139.000 | 26.200 | 32.804.600 |
| Vận chuyển | 77.274 | 493.190 | 0 | 0 | 4.797.000 |
| Khác | 11.847 | 104.311 | 0 | 0 | 1.292.000 |
| Chi phí cho cả đợt | 8.010.875 | 8.635.579 | 0 | 0 | 102.275.320 |

Bảng 3.22. Chi phí điều trị cho người bệnh VNVR tại bệnh viện tỉnh*Đơn vị tính: VNĐ*

| Các giai đoạn điều trị | Trung bình | SD | Trung vị | Thấp nhất | Cao nhất |
|-----------------------------------|------------|------------|-----------|-----------|-------------|
| Tại khoa cấp cứu (n=84) | 10.216.609 | 11.648.506 | 7.065.144 | 2.658.390 | 83.902.504 |
| Tại khoa điều trị tích cực (n=13) | 10.224.857 | 13.217.041 | 4.112.153 | 2.777.625 | 47.588.584 |
| Tại khoa truyền nhiễm (n=335) | 7.438.035 | 7.665.856 | 5.685.766 | 2.702.367 | 102.275.320 |
| Khác (TK/PHCN) (n=24) | 7.047.294 | 3.480.895 | 5.724.448 | 3.230.675 | 17.128.740 |

Bảng 3.22 cho thấy người bệnh điều trị ở khoa điều trị tích cực và khoa cấp cứu có chi phí tương tự nhau và cao nhất (10.224.857 đồng và 10.216.609 đồng), tiếp theo là ở khoa truyền nhiễm (7.438.035 đồng) và các khoa khác (7.047.294 đồng).

3.3.2. Một số yếu tố ảnh hưởng đến chi phí điều trị trực tiếp cho y tế của người bệnh Viêm não vi rút

Bảng 3.23. Chi phí trực tiếp cho điều trị theo một số yếu tố nhân khẩu học

| Đặc điểm | | Chi phí điều trị trực tiếp cho y tế (trung vị) | p* |
|-----------|--------------|--|--------|
| Nhóm tuổi | < 5 tuổi | 5.992.298 | <0,001 |
| | 5-15 tuổi | 4.636.132 | |
| | 15-45 tuổi | 5.912.022 | |
| | >45 tuổi | 7.733.876 | |
| Giới tính | Nam | 5.675.550 | 0,368 |
| | Nữ | 5.974.572 | |
| Dân tộc | Dân tộc Kinh | 5.027.160 | 0,122 |
| | Dân tộc khác | 5.910.597 | |

(*) *Kruskal wallis test*

Kết quả phân tích chi phí trực tiếp cho điều trị theo nhóm tuổi cho thấy nhóm người bệnh trên 45 tuổi có mức chi phí điều trị trung bình cao nhất (7.733.876 đồng), tiếp đến là nhóm dưới 5 tuổi (5.992.298 đồng) và nhóm 15-45 tuổi (5.912.022 đồng), và thấp nhất là nhóm 5-15 tuổi (4.636.132 đồng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $P < 0,001$.

Trong nghiên cứu này chưa thấy có sự khác biệt về chi phí điều trị giữa nhóm người bệnh nam và nữ, cũng như giữa nhóm dân tộc Kinh và nhóm dân tộc thiểu số ($P > 0,05$).

Bảng 3.24. Chi phí trực tiếp cho điều trị theo thời gian điều trị

| Thời gian điều trị | Chi phí trực tiếp cho điều trị (trung vị) | p* |
|--------------------|---|--------|
| < 7 ngày | 4.438.378 | <0,001 |
| 7- 14 ngày | 6.166.919 | |
| Trên 14 ngày | 11.764.325 | |

(*) *Kruskal wallis test*

Người bệnh càng điều trị dài ngày thì chi phí trực tiếp điều trị càng gia tăng. Cụ thể người bệnh điều trị trên 14 ngày thì chi phí điều trị trung bình lên tới

11.764.325 đồng, cao hơn gần gấp đôi so với nhóm điều trị từ 7-14 ngày (6.166.919 đồng) và gần gấp ba so với nhóm điều trị dưới 7 ngày (4.438.378 đồng).

Bảng 3.25. Chi phí trực tiếp cho điều trị theo tác nhân

| Tác nhân | Chi phí trực tiếp cho điều trị (trung vị) | P* |
|--------------------------|--|-----------|
| Vi rút VNNB | 6.403.675 | >0,05 |
| Vi rút đường ruột | 5.918.020 | |
| Khác (HSV, Dengue, hCMV) | 4.367.165 | |

(*) *Kruskal wallis test*

Kết quả bảng trên cho thấy chi phí trực tiếp cho điều trị theo tác nhân gây bệnh dao động từ 4.367.165 đồng với tác nhân là các vi rút HSV, Dengue, hCMV, ... đến 6.403.675 đồng với tác nhân là vi rút VNNB. Tuy nhiên chưa tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong phân tích tương quan theo yếu tố tác nhân gây bệnh ($P > 0,05$).

Chương 4. BÀN LUẬN

4.1. Thực trạng của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

HCVNC do vi rút là mối quan tâm cho sức khỏe cộng đồng trên toàn thế giới vì tỷ lệ tử vong cao và di chứng thần kinh nặng nề. Về biểu hiện lâm sàng, có nhiều tác nhân gây HCVNC với những triệu chứng khó có thể xác định được do tác nhân vi rút nào. Thậm chí HCVNC do vi rút VNNB cũng có các thể lâm sàng rất đa dạng, dễ nhầm lẫn với HCVNC do tác nhân vi rút khác. Ngoài tác nhân vi rút, một số loại hợp chất tự nhiên như Hypoglycin A và Methylencyclopropylglycine có trong vỏ, niềng trắng của hạt vải cũng có thể là một yếu tố góp phần gia tăng thể viêm não tối cấp ở trẻ em do tình trạng hạ đường huyết cấp, dễ nhầm với thể HCVNC thể tối cấp. Những ca bệnh này có thể mắc thêm các tác nhân vi rút khác làm cho tình trạng bệnh nặng nề hơn ở những vùng nông thôn miền núi trồng vải trong mùa thu hoạch quả, vì vậy chẩn đoán xác định bệnh cần được khẳng định bằng các kỹ thuật xét nghiệm phù hợp. Ước tính tỷ lệ HCVNC do vi rút là 1,4/100.000 dân, điều kiện về sinh thái, địa lý là yếu tố quyết định chính của HCVNC do những vi rút gây bệnh lây truyền qua véc tơ. Chẩn đoán HCVNC do vi rút vẫn là thách thức đối với y học, vì gần 40%-70% ca HCVNC nghi ngờ do vi rút chưa xác định được nguyên nhân [35].

Dù đã được ghi nhận từ hàng trăm năm trước và đã có khá nhiều nghiên cứu về đề tài này trong y văn thế giới nhưng cho đến nay, Viêm não vi rút vẫn là vấn đề y tế công cộng trên toàn thế giới, mỗi năm có hàng trăm nghìn ca mắc, với tỷ lệ tử vong và di chứng cao [138].

Khu vực châu Á từ lâu đã là điểm nóng của Viêm não vi rút, đặc biệt là Viêm não Nhật Bản, theo số liệu của Tổ chức Y tế thế giới, 24 quốc gia thuộc vùng Đông Nam Á và Tây Thái Bình Dương nằm trong khu vực nguy cơ lây truyền Viêm não Nhật Bản, trong đó có Việt Nam [2]. Trong giai đoạn những năm 1990 - 2010, mỗi năm Việt Nam ghi nhận trung bình từ 2.000 – 3.000 ca mắc Viêm não vi rút. Từ năm 2011 – nay, mỗi năm nước ta ghi nhận trên 1.000 ca mắc, vẫn ở mức cao [3]. Mặc dù hiện nay Chương trình tiêm chủng mở rộng đã được triển khai ở nước ta với chất

lượng và độ bao phủ cao, tuy nhiên ở một số khu vực miền núi, vùng sâu, vùng xa tỷ lệ tiêm chủng còn chưa đạt yêu cầu, bên cạnh đó một số nhóm đối tượng có nguy cơ mắc bệnh nhưng lại không phải là đối tượng tiêm chủng mở rộng, khiến cho tỷ lệ mắc VNVR tại Việt Nam, đặc biệt là ở một số tỉnh miền núi (Sơn La, Điện Biên, Lào Cai, Lai Châu, ...) còn ở mức cao [3, 21].

4.1.1. Tỷ lệ mắc VNVR ở Tây Bắc, Việt Nam, 2017 - 2018

Kết quả nghiên cứu phát hiện 473 ca mắc VNVR, trong số đó 17 ca tử vong tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai từ năm 2017 - 2018, tỷ lệ chết/mắc là 3,6%. Tỷ lệ chết trên mắc ở Tây Bắc thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Gurav và cộng sự tại Ấn Độ về vụ dịch viêm não nghi do vi rút năm 2014 ở nước này - 28,9% (115/398), tỷ lệ này khác nhau giữa các nhóm tuổi: trẻ em (13,4%, 9/67), vị thành niên (28,6%, 14/49), người lớn (32,6%, 92/282), và khác nhau giữa nam (27,7%, 68/245), và nữ (30,7%, 47/153) [64]. Tại Sơn La, ca bệnh VNVR năm 2017 – 2018 phân bố tại 11/12 huyện/thành phố của tỉnh Sơn La, riêng huyện Vân Hồ không ghi nhận ca mắc VNVR nào. Số mắc tập trung cao ở khu vực phía Tây gồm thành phố Sơn La (84 ca), Mai Sơn (54 ca), Thuận Châu (53 ca), Sông Mã (44 ca), huyện Mường La (24 ca). Tại Điện Biên, 9 trên tổng số 10 huyện/thành phố/thị xã của tỉnh Điện Biên ghi nhận ca bệnh VNVR trong năm 2017 – 2018, trong đó số mắc cao nhất tập trung ở các huyện Mường Chà (19 ca mắc, 3 ca tử vong), Điện Biên Đông (18 ca mắc, 1 ca tử vong), Nậm Pồ (10 ca mắc, 2 ca tử vong). Huyện Mường Lay không ghi nhận ca mắc VNVR trong 2 năm nghiên cứu. Tương tự, tại Lào Cai, ghi nhận ca bệnh VNVR tại 8 trên tổng số 9 huyện/thành phố/thị xã. Trong đó, số mắc cao nhất tại Sa Pa (13 ca mắc, 1 ca tử vong), Bảo Yên (12 ca mắc), Bảo Thắng (13 ca mắc), Văn Bàn (10 ca mắc). Huyện Si Ma Cai không ghi nhận VNVR trong 2 năm nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu cho thấy VNVR khá phổ biến ở các tỉnh Tây Bắc. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Dương Thị Hiền tại Bắc Giang, giai đoạn 2004-2017 là VNNB phân bố rộng ở 9/10 huyện thị của tỉnh Bắc Giang, và Phạm Khánh Tùng nghiên cứu tại Tây Nguyên giai đoạn 2005-2018 ghi nhận VNNB tại 66-88% huyện thị [21, 39].

Tỷ lệ mắc/100.000 dân tại Sơn La là 13,1 ca/100.000 dân, tại Điện Biên là 8,5 ca/100.000 dân và Lào Cai là 5,1 ca/100.000 dân. Tỷ lệ này cao hơn so với các khu vực khác trong nước. Tỷ lệ mắc VNVR chung của khu vực miền Bắc năm 2018 là 1,4 ca/100.000 dân [3].

Nghiên cứu tại Mỹ của Benjamin P. George và cộng sự từ năm 2000 – 2010 về các ca nhập viện với chẩn đoán viêm não đã ghi nhận 238.706 ca, tỷ lệ viêm não nhập viện là 7,3 ca trên 100.000 dân (95% CI: 7,1–7,6). Người ta thấy có sự gia tăng tỷ lệ mắc bệnh từ 6,6 ca trên 100.000 dân (95% CI: 6,2–7,0) năm 2000 lên 7,6 ca trên 100.000 dân (95% CI: 7,2–8,1) năm 2010 [60].

Trong khi đó, Marjaleena Koskiniemi và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu các ca viêm não nhập viện trong cộng đồng 4 triệu dân tại Phần Lan trong những năm 90 của thế kỷ XX thấy trong giai đoạn 1995 – 1996 đã ghi nhận 3.231 ca viêm não nhập viện với triệu chứng nghi ngờ nhiễm vi rút tiền phát của hệ thần kinh trung ương, tỷ lệ mắc dao động từ 25 – 100 người bệnh trên 100.000 dân/năm, dựa trên số liệu dân số khác nhau của mỗi khu vực [101].

Nghiên cứu của Arpita Gogoi và cộng sự, 2016 cho thấy trong 2 năm 2014 – 2015 tại khoa Nhi của 2 bệnh viện tại Ấn Độ có tổng số 10.762 bệnh nhi nhập viện với 445 ca hội chứng não cấp (AES – Acute Encephalitis Syndrome) theo tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế thế giới, chiếm tỷ lệ 4,13% [61]. Nghiên cứu tổng quan của Fidan Jmor và cộng sự năm 2008 trên 87 nghiên cứu về hội chứng não cấp cho thấy có sự khác biệt giữa các nghiên cứu về định nghĩa ca bệnh, tiêu chuẩn lâm sàng, căn nguyên, phương pháp nghiên cứu. Ở các nước công nghiệp phương Tây, tỷ lệ mắc ước tính khoảng 10,5 – 13,8 ca trên 100.000 dân ở trẻ em. Trong khi đó ở người lớn tỷ lệ này thấp nhất là 2,2 ca trên 100.000 dân. Một số nghiên cứu cho thấy tỷ lệ mắc ở tất cả các nhóm tuổi dao động từ 6,34 ca – 7,4 ca//100.000 dân tùy theo khu vực nhiệt đới hay ôn đới [77]

Như vậy, khi so sánh với tỷ lệ mắc ở các nghiên cứu trên thế giới, có thể thấy tỷ lệ mắc VNVR của 3 tỉnh khu vực Tây Bắc Việt Nam trong giai đoạn 2017 – 2018 là cao hơn các khu vực khác trong nước và một số vùng lưu hành trên thế giới.

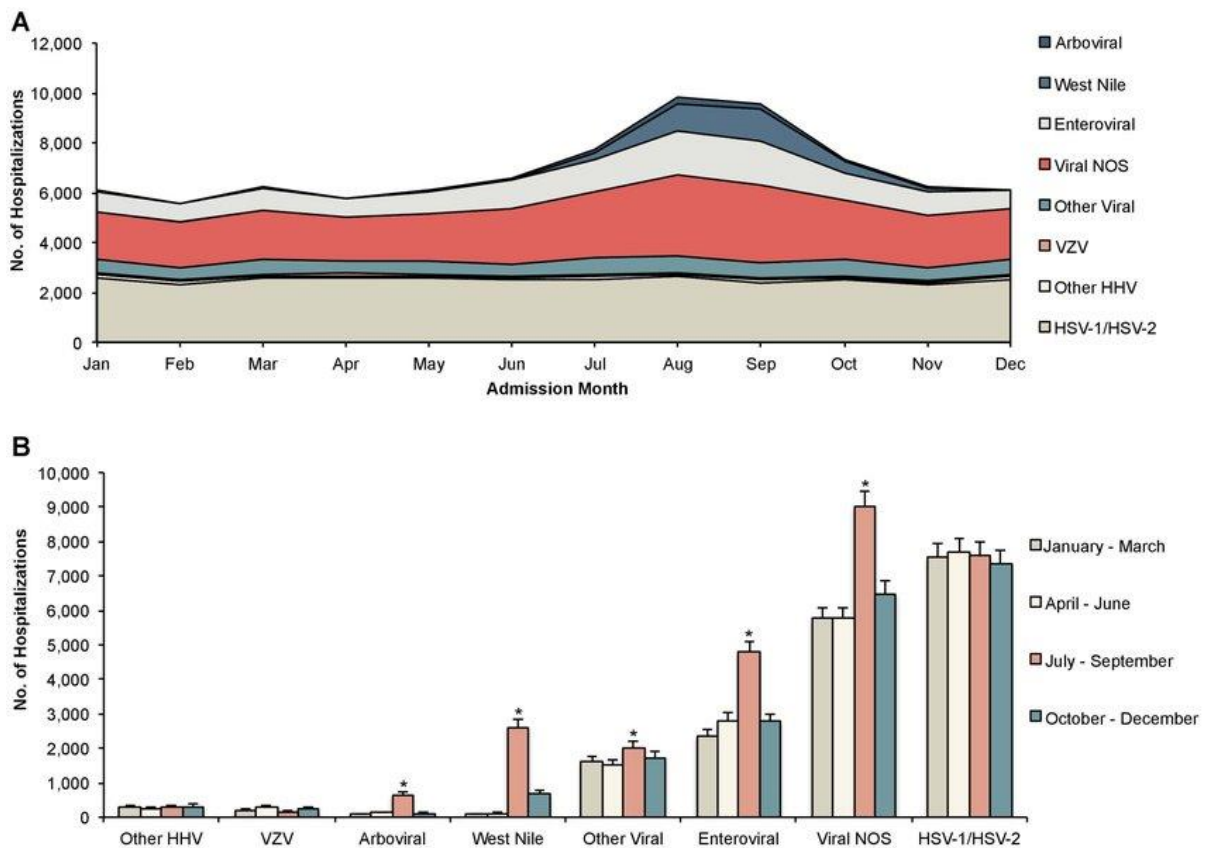
4.1.2. Diễn biến bệnh VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc, Việt Nam, 2017 – 2018 theo thời gian

Ca bệnh phân bố ở tất cả các tháng trong năm nhưng tập trung cao vào tháng 6 – 7, đây là những tháng mùa hè, quần thể muỗi véc tơ truyền bệnh phát triển mạnh có thể là điều kiện thuận lợi cho sự gia tăng của bệnh. Theo kết quả nghiên cứu về viêm não – màng não năm 2012 tại các bệnh viện ở Việt Nam, tính chất mùa có tác động rõ rệt đến tỷ lệ ca viêm não nhập viện, với đỉnh dịch được xác định vào tháng 6, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $P < 0,001$ [10]. Một số nghiên cứu năm 2015 tại tỉnh Sơn La, năm 2008 – 2016, 2004-2017 tại tỉnh Bắc Giang, và 2005-2018 tại Tây Nguyên cũng cho kết quả tương tự [14, 87, 21, 39].

Nghiên cứu ở một số nước châu Á cũng đưa ra những kết quả tương đồng. Nghiên cứu của Yogesh K. Gurav, năm 2014 tại Tây Belgan, Ấn Độ - nơi có biên giới với ba quốc gia là Nepal, Bhutan và Bangladesh cho thấy trong 398 ca hội chứng não cấp thu thập từ tháng 6 – 8 năm 2014, số mắc ghi nhận rải rác trong các tuần của tháng 6 sau đó tăng vọt vào tháng 7 với hàng trăm ca mỗi tuần, sau đó giảm nhanh vào tháng 8 [64]. Một nghiên cứu khác cũng tại Ấn Độ tiến hành thu thập số liệu các ca hội chứng não cấp trong 3 năm 2014 – 2016 cho thấy bệnh có xu hướng mùa rất rõ rệt, các ca bệnh xuất hiện không nhiều trong các tháng từ tháng 1 – tháng 6, bắt đầu có sự tăng nhẹ từ tháng 7 và đạt đỉnh vào tháng 9 hàng năm, sau đó lại giảm dần vào tháng cuối năm [75].

Nghiên cứu về VNNB tại Đài Loan của Chien-Ling Su cũng cho kết quả tương tự, các ca mắc VNNB cũng như véc tơ muỗi truyền bệnh VNNB gia tăng mạnh mẽ trong các tháng mùa hè (tháng 6 – 7 hàng năm) [126].

Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu cho thấy VNVR nói chung có hay không có tính chất mùa tùy thuộc vào loại tác nhân gây bệnh. Nghiên cứu tại Mỹ 11 năm cho thấy, vi rút HSV, vi rút thủy đậu, các vi rút Herpes khác (other HHV) lưu hành quanh năm, nhóm vi rút arbo, vi rút Tây sông Nin, VRĐR có xu hướng gia tăng trong giai đoạn tháng 7 – 9 hàng năm [60].



Hình 4.1. Tính chất mùa của các ca nhập viện do VNVR theo tháng (A) và theo mùa (B) (n = 83.225) [60]

Các VRĐR có sự phân bố rộng khắp thế giới và thường lưu hành nổi trội vào mùa hè ở vùng khí hậu ôn đới và vào mùa mưa ở các nước nhiệt đới. Viêm màng não do VRĐR thường xảy ra vào mùa hè và mùa thu ở vùng ôn đới trong khi viêm màng não vi rút của các tác nhân khác (ví dụ vi rút quai bị) thường xảy ra vào mùa đông và xuân. NPEV là các tác nhân phổ biến nhất gây bệnh viêm màng não vô khuẩn ở Mỹ, đặc biệt là vào cuối xuân và mùa thu. Trong nghiên cứu của chúng tôi tại 3 tỉnh Tây Bắc, VNVR chủ yếu do vi rút VNNB và VRĐR và vì vậy VNVR ở đây mang tính mùa rõ rệt và tăng cao vào mùa hè (tháng 6 và tháng 7).

4.1.3. Phân bố ca bệnh VNVR theo một số yếu tố dịch tễ (tuổi, giới tính, nghề nghiệp, dân tộc, trình độ học vấn)

Trong số mắc VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc năm 2017 - 2018, tỷ lệ nam : nữ là 1,22 : 1, khá phù hợp với kết quả các nghiên cứu trong nước và nước ngoài về bệnh này. Hồ Đặng Trung Nghĩa và cộng sự năm 2007 – 2010 nghiên cứu tại các bệnh

viện ở Việt Nam cho thấy tỷ lệ mắc viêm não ở nam khoảng 62 – 70%, cao hơn ở nữ [142]. Điều này có thể lý giải là do đặc tính sinh hoạt của nam giới thường hoạt động, di chuyển nhiều hơn nữ giới, trẻ trai có thói quen chơi đùa, nghịch nhiều hơn trẻ gái, nên có cơ hội lây nhiễm nhiều hơn bé gái. Trong các nghiên cứu về VNNB được công bố, hầu hết đều ghi nhận tỷ lệ số mắc VNNB ở nam cao hơn nữ, ví dụ như nghiên cứu tại Campuchia, xác định tỷ lệ số mắc VNNB ở nam giới là 56% [133]. Trong nghiên cứu tại Philippines năm 2013 trong tổng số 251 ca HCVNC có 18% (44 ca) là VNNB được xác định bằng kỹ thuật ELISA, tỷ lệ số mắc nam/nữ là 1,5 [79]. Kết quả nghiên cứu về VNNB của Dương Thị Hiền, 2020, cũng cho kết quả tương tự, trong giai đoạn 2004-2017, tỷ lệ số mắc VNNB ở nam giới là 58,33% (70/120), tỷ lệ số mắc VNNB ở nữ giới là 41,67% [21]. Một số nghiên cứu khác trên thế giới cũng đưa ra kết quả đa dạng về tỷ lệ nam : nữ. Nghiên cứu của Benjamin P. George và cộng sự về các ca viêm não nhập viện tại Mỹ từ 2000 – 2010 không thấy sự chênh lệch nhiều giữa tỷ lệ nam và nữ, khoảng 53% số người bệnh viêm não là nữ [60]. Nghiên cứu trên 400 bệnh nhi viêm não nhập viện tại Tây Belgan - Ấn Độ có tỷ lệ nam : nữ là 1,5 : 1, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $P = 0,654$ [61]. Điều tra vụ dịch viêm não tại Ấn Độ năm 2014 lại cho thấy tỷ lệ nam: nữ là 1 : 0,6 [64].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, đáng lưu ý là nhóm người trưởng thành (từ 15 - 29 tuổi trở lên) chiếm tỷ lệ khá cao, tới 24,3% trong tổng số 473 ca bệnh. Tại các tỉnh Tây Bắc nhiều năm trước đây ghi nhận tỷ lệ mắc VNVR thấp, vì vậy rất có thể có nhiều người ở tuổi trưởng thành chưa phơi nhiễm với VNVR, nên số mắc ở người lớn có tỷ lệ cao. Tuy nhiên, tỷ lệ mắc ở nhóm trẻ dưới 5 tuổi cao nhất, 28,6% tiếp theo là nhóm 15 – 29 tuổi (24,3%). Phân tích sâu thêm chúng tôi nhận thấy trẻ dưới 1 tuổi – nhóm chưa đến tuổi tiêm vắc xin VNNB chiếm tỷ lệ khá cao, 14,2%. Nhóm 1 – 5 tuổi chiếm 14,4%. Địa bàn nghiên cứu là các tỉnh miền núi với nhiều huyện/xã vùng sâu, vùng xa, có thể tại các khu vực này độ bao phủ của Chương trình tiêm chủng mở rộng còn thấp, việc tiếp cận dịch vụ tiêm chủng còn nhiều hạn chế. Tỷ lệ tiêm chủng đầy đủ vắc xin VNNB trong nhóm đối tượng mắc là thấp (3,2%). Bên

cạnh đó sự đa dạng các tác nhân gây bệnh được phát hiện ở Tây Bắc cũng lý giải một phần về phân bố nhóm tuổi này ở các ca bệnh VNVR. Kết quả nghiên cứu về sự phân bố bệnh VNNB ở Việt Nam theo nhóm tuổi cho thấy có sự khác biệt qua các giai đoạn. Theo số liệu nghiên cứu ghi nhận, từ 1985-1992 nhóm 1-4 tuổi mắc cao nhất chiếm 36,9%, sau đó là nhóm 5-9 tuổi chiếm 34,6% [33]. Nghiên cứu tại Gia Lương - Bắc Ninh năm 1993-1997 cho thấy 97,2% VNNB xảy ra ở trẻ <15 tuổi, trong đó cao nhất là nhóm 1-5 tuổi chiếm 54,3%. Trong giai đoạn 1998-1999, tỷ lệ mắc VNNB ở nhóm tuổi 1-4 trên toàn miền Bắc là 27,14%, nhóm 5-9 tuổi chiếm 45,12%, nhóm 10-14 tuổi chiếm 18,9%. Còn trong giai đoạn 2000-2001 ở cả ba miền cho kết quả tương tự, ở nhóm tuổi 5-9 chiếm 43,61%, nhóm 10-14 là 23,67%, nhóm 1-4 là 14,14%. Tại Hà Tây, giai đoạn 1998-2005 chưa sử dụng vắc xin phòng bệnh, tỷ lệ mắc ở nhóm trẻ 1-4 là 21,6%, nhóm trẻ 5-9 là 43,2%, nhóm trẻ 10-14 là 27,3% và nhóm trên 15 tuổi là 7,9%. Tại Thanh Hóa, nơi được sử dụng vắc xin từ 1997, đến 2006 có 93% trẻ từ 1-5 tuổi được tiêm phòng vắc xin VNNB, trong nghiên cứu giai đoạn 2006-2007 cho thấy tỷ lệ mắc VNNB của trẻ 1-4 là 13,9%, trẻ 5-9 là 36,1%, trẻ 10-14 là 36,1% và trên 15 tuổi là 13,9% [40]. Tại Bắc Giang giai đoạn 2004-2017 cũng cho kết quả tương tự về VNNB ở miền Bắc Việt Nam, tỷ lệ mắc trên 100.000 trẻ tương ứng ở trẻ <15 tuổi là 1,95/100.000 trẻ, ở nhóm >15 tuổi là 0,09/100.000 người. Tỷ lệ mắc VNNB/100.000 trẻ tương ứng ở nhóm tuổi <15 cao hơn 21 lần so với tỷ lệ mắc ở nhóm >15 tuổi, cao gấp 3,6 lần tỷ lệ mắc trung bình của cả cộng đồng [21]. Có sự thay đổi về tỷ lệ số mắc VNNB giữa các nhóm tuổi và đặc biệt có sự dịch chuyển nhóm tuổi theo chiều hướng tăng lên trong VNNB là do sự tác động của hiệu quả phòng bệnh VNNB bằng vắc xin. Cũng theo Dương Thị Hiền, 2020, tại Bắc Giang hầu hết các ca bệnh VNNB không được tiêm vắc xin phòng bệnh (64,17%), hoặc tiêm không đầy đủ (35,83%). Tỷ lệ mắc VNNB dù đã tiêm 3 liều cơ bản nhưng không tiêm liều củng cố với số mắc cao ở nhóm 5-9 tuổi (10 ca) và nhóm 10-14 tuổi (9 ca) chiếm 90% (19/21 ca) tổng số ca mắc VNNB cho thấy, cần tăng cường công tác truyền thông về việc thực hiện sử dụng vắc xin phòng bệnh VNNB đầy đủ và tuân thủ tiêm nhắc lại theo hướng dẫn của nhà sản xuất để củng cố miễn dịch đảm bảo

hiệu quả phòng bệnh tốt nhất [21]. Trên thế giới, phân bố tuổi của bệnh VNVR cho kết quả khá đa dạng. Tại Mỹ, trong 48.598 ca viêm não nhập viện, tỷ lệ cao nhất thuộc về nhóm 45 – 64 tuổi với 14.107 ca, chiếm 29%; nhóm 20 – 44 tuổi với 13.688 ca ở vị trí số hai (28,2%), nhóm trẻ dưới 1 tuổi và 1 – 4 tuổi chiếm tỷ lệ rất thấp lần lượt là 2,5% và 3,7% [60]. Kết quả điều tra vụ dịch ở Ấn Độ có tỷ lệ trẻ dưới 10 tuổi chiếm 16,8%, vị thành niên 10 – 19 tuổi là 12,3%, tỷ lệ cao nhất thuộc nhóm người trưởng thành trên 20 tuổi – chiếm tới 70,8% [64]. Tại Phần Lan tỷ lệ VNVR ở trẻ dưới 10 tuổi cao nhất (29,5%), nhóm trung bình gồm trên 71 tuổi (12%), 11 – 20 tuổi (11,3%),... nhóm chiếm tỷ lệ thấp nhất là 21 – 30 tuổi (7,2%) [101]. Tại Thái Lan tỷ lệ số mắc VNNB ở các nhóm tuổi khác nhau được ghi nhận từ trẻ 6 tháng tuổi đến người lớn 57 tuổi, có 68% ca bệnh ở nhóm <20 tuổi, trong đó 46% là ở trẻ <15 tuổi. Tại Philippines, năm 2006 trong số 72 ca mắc VNNB ở Metro Manila, Luzon và Visayas có 73% số ca bệnh VNNB <17 tuổi. Năm 2013, kết quả giám sát tại 5 bệnh viện tại Philippines cho thấy 64% ca mắc VNNB ở nhóm trẻ 2-9 tuổi [139]. Theo số liệu của Tổ chức Y tế thế giới, ở những nước trọng điểm lưu hành vi rút VNNB, hầu hết số mắc là <10 tuổi. Ở các quốc gia Nhật Bản, Hàn Quốc, một số vùng Trung Quốc, Ấn Độ số mắc VNNB đã giảm đi rất nhiều do tăng cường sử dụng vắc xin phòng bệnh, việc cải thiện điều kiện kinh tế xã hội, việc thay đổi điều kiện sản xuất trong nông nghiệp, kiểm soát tốt véc tơ, giáo dục phòng bệnh ở những khu vực này, những ca VNNB chủ yếu gặp ở trẻ lớn và người lớn [143]. Như vậy, có thể thấy phân bố các ca VNVR theo nhóm tuổi rất đa dạng ở các vùng địa lý và quốc gia, phụ thuộc vào sự lưu hành của các tác nhân gây bệnh và hiệu quả chương trình tiêm phòng bằng vắc xin.

Các ca VNVR ở khu vực Tây Bắc năm 2017 – 2018 thuộc nhiều dân tộc khác nhau, ở mỗi tỉnh lại có đặc trưng riêng. Sơn La ghi nhận số mắc chủ yếu là đồng bào dân tộc Thái. Về mặt phân bố dân cư, dân tộc Thái chiếm 53,2% dân số toàn tỉnh Sơn La và 36,9% tổng số người Thái tại Việt Nam, vì vậy số mắc VNVR ở tỉnh này ở nhóm người Thái cũng dễ hiểu. Tương tự, tại Điện Biên và Lào Cai, dân tộc H'Mông chiếm tỷ lệ cao nhất. Về mặt phân bố dân cư, dân tộc H'Mông chiếm 34,8% dân số

toàn tỉnh Điện Biên và 16,0% tổng số người H'Mông tại Việt Nam; trong khi đó tại Lào Cai dân tộc H'Mông chiếm 23,8% dân số toàn tỉnh, 13,7% tổng số người H'Mông tại Việt Nam. Ngoài ra Lào Cai ghi nhận số ca mắc đáng kể là người dân tộc Dao - dân tộc chiếm 14,4% dân số toàn tỉnh và 11,8% tổng số người Dao tại Việt Nam. Do ở các tỉnh khu vực Tây Bắc, nhóm dân tộc thiểu số chiếm đa số, nên tỷ lệ mắc VNVR ở nhóm này cao hơn (số liệu từ Tổng điều tra dân số và nhà ở năm 2009). Liên quan tới nghề nghiệp của người bệnh VNVR, tại Sơn La, các ca mắc tập trung vào nhóm nghề nông (41% số mắc), và học sinh (30,2% số mắc). Trẻ nhỏ dưới tuổi đi học và các nghề nghiệp khác chiếm tỷ lệ thấp hơn. Tại tỉnh này, sau vụ dịch VNVR 2014, phần lớn trẻ dưới 5 tuổi đã được tiêm vắc xin VNNB, vì vậy nhóm trẻ nhỏ có tỷ lệ mắc thấp. Trong khi đó, Điện Biên ghi nhận tới 48,9% số ca trong nhóm trẻ nhỏ dưới tuổi đi học, đặc biệt chỉ ghi nhận 1 ca là nông dân. Nhóm nghề nghiệp khác (buôn bán, tự do, nhân viên văn phòng, ...) chiếm tỷ lệ đáng kể với 28 ca tương đương 31,1%. Tại tỉnh Lào Cai nghề nghiệp của các ca VNVR khá tương đồng với Điện Biên khi có tới 57,4% số ca mắc trong nhóm trẻ nhỏ dưới tuổi đi học và 22,1% trong nhóm học sinh. Nông dân và các nghề nghiệp khác chiếm tỷ lệ thấp. Về trình độ học vấn 35,7% thuộc nhóm trẻ chưa đến tuổi đi học, nhóm học sinh THPT 29,2%, có tỷ lệ nhỏ số ca bệnh có trình độ đại học/cao đẳng và mù chữ.

4.2. Một số tác nhân vi rút gây viêm não và muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017-2018

4.2.1. Một số tác nhân vi rút gây viêm não tại 3 tỉnh Tây Bắc, 2017-2018

Căn nguyên gây HCVNC liên quan nhiều nhất đến vi rút gây bệnh, nhưng cũng có thể gặp các căn nguyên vi sinh khác như vi khuẩn, ký sinh trùng, nấm... và cả những ca viêm não vô khuẩn. Những năm gần đây, nhờ sự hỗ trợ của các kỹ thuật y sinh học hiện đại như kỹ thuật nuôi cấy phân lập, kỹ thuật khuếch đại chuỗi PCR để xác nhận sự hiện diện của các vi sinh vật đã giúp rất nhiều cho việc chẩn đoán căn nguyên gây HCVNC. Tại Anh và xứ Wales trong giai đoạn 2004-2013 đã xác định tỷ lệ mắc HCVNC tăng lên từ 0,6/100.000 dân trong năm 2004 lên đến 3,9/100.000

dân trong năm 2013, việc tăng cường sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử để xét nghiệm đã góp phần làm tăng 7 lần số ca bệnh HCVNC được xác định nguyên nhân [81].

Kết quả xét nghiệm bằng phương pháp huyết thanh học và phương pháp sinh học phân tử xác định tác nhân vi rút trong các mẫu bệnh phẩm của người bệnh VNVR tại 3 tỉnh khu vực Tây Bắc năm 2017-2018 cho tỷ lệ dương tính chung với các tác nhân vi rút là 28,5%. Theo kết quả xét nghiệm tại từng tỉnh, tỷ lệ dương tính dao động từ 18,4% đến 57,4%. Tỷ lệ dương tính ở khu vực Tây Bắc trong giai đoạn 2017-2018 thấp hơn so với ở khu vực miền Bắc năm 2015 (44,4%) [16] và tỷ lệ dương tính trung bình khu vực miền Trung giai đoạn 2015-2017 (47,3%) [25]. Sự khác nhau về tỷ lệ dương tính này có thể là do định nghĩa ca bệnh VNVR, loại mẫu bệnh phẩm thu thập và loại tác nhân xét nghiệm trong các nghiên cứu là khác nhau. Nghiên cứu tại Mỹ từ 2000 – 2010 có tỷ lệ dương tính với vi rút của các ca viêm não và 25,6% [60]. Tỷ lệ này ở nghiên cứu tại Phần Lan là 20,4% [97].

Trong các tác nhân gây VNVR, vi rút VNNB có vai trò quan trọng ở khu vực châu Á, trong đó có Việt Nam [145]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tác nhân vi rút VNNB có tỷ lệ dương tính là 22,4% (bao gồm mẫu dương tính với VNNB và mẫu đồng nhiễm VNNB – VRĐR), kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của P.T.C.Hà và cs năm 2015 tại Sơn La (49,4%) [16]; tuy nhiên tỷ lệ này cao hơn so với tỷ lệ dương tính với tác nhân VNNB ở khu vực miền Trung trong 3 năm 2015-2017 là 12,68% [25]. Sự khác nhau về tỷ lệ dương tính với tác nhân VNNB có thể do sự lưu hành của vi rút này khác nhau giữa các năm, khác nhau về khu vực địa lý, dân cư, và tùy theo mức độ bao phủ và tỷ lệ tiêm chủng đầy đủ vắc xin VNNB ở cộng đồng dân cư. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy ở khu vực Tây Bắc, vi rút VNNB mặc dù đã có vắc xin phòng bệnh, vẫn là một trong những tác nhân phổ biến gây VNVR ở khu vực này. Trong tổng số 105 mẫu dương tính với VNNB, có 3 ca tiêm đủ 3 mũi vắc xin vẫn mắc bệnh, có thể liên quan đến khả năng đáp ứng miễn dịch của cá thể, kỹ thuật tiêm chủng hoặc do quá trình vận chuyển bảo quản vắc xin ở các vùng sâu vùng xa cần được tiếp tục rà soát và hoàn thiện. Nghiên cứu tại Ấn Độ năm 2014 – 2015 tập hợp số liệu từ 407 bệnh nhi mắc hội chứng não cấp theo định nghĩa của Tổ chức

Y tế thế giới, tỷ lệ dương tính với vi rút VNNB khá cao là 43,2% [61]. Tại Việt Nam, tỷ lệ xác định căn nguyên VNNB trong số các ca HCVNC là 26%-49% [12], [31], [33], [115], [129]. Nghiên cứu tại Bắc Giang tỷ lệ xác định căn nguyên vi rút VNNB gây HCVNC là 20,20%. Tỷ lệ mắc VNNB tại Bắc Giang thấp hơn tỷ lệ mắc VNNB ở miền Bắc cũng như giai đoạn trước do sự bao phủ vắc xin trên 99% ở trẻ 1-5 tuổi trong Chương trình tiêm chủng mở rộng. Bên cạnh đó, từ năm 2011 Bắc Giang đã chủ động tiêm vắc xin phòng bệnh VNNB vào tháng 3, tháng 4 hàng năm cùng với việc phun thuốc diệt véc tơ truyền bệnh VNNB chủ động trước mùa dịch vào các tháng 3, 4, 5 tại các vùng trọng điểm trên địa bàn toàn tỉnh cũng góp phần dự phòng bệnh do muỗi truyền nói chung trong đó có phòng bệnh VNNB [18], [40, 44], [124].

Theo Dương Thị Hiền, 2020 [21], tại Bắc Giang, tổng số 594 ca bệnh HCVNC giai đoạn 2004-2017 đã xác định được 4 tác nhân vi rút gây HCVNC là vi rút đường ruột, vi rút VNNB, vi rút Banna và vi rút Nam Định. Không phát hiện được ca nào bị HCVNC do các vi rút Herpes. HSV là tác nhân chủ yếu gây bệnh ở da và niêm mạc, thường chỉ gây HCVNC thứ phát trên người bệnh suy giảm miễn dịch nên tỷ lệ HCVNC do HSV thường thấp hoặc không phát hiện ở trẻ em. Tại Bắc Giang, căn nguyên chủ yếu gây HCVNC là nhóm vi rút arbo và VRĐR. Số ca phát hiện được ít nhất một nguyên nhân trên tổng số ca mắc HCVNC là 302/594 (50,84%). Tỷ lệ phát hiện được căn nguyên vi rút gây HCVNC trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới và tại miền Nam Việt Nam, tỷ lệ phát hiện được tác nhân trong khoảng 30-60% [56], [66], [72], [115], [129]. Tại Trung Quốc tỷ lệ mắc HCVNC giao động từ 9,2-14,2/100.000 dân, trong đó VNNB trong khoảng 0,08-1,5/100.000 dân. Tỷ lệ mắc VNNB trong số các ca bệnh lâm sàng có chẩn đoán HCVNC là 9,3% [139]. Tại Campuchia, VNNB là bệnh lưu hành, ca bệnh đầu tiên tại Campuchia ghi nhận được vào năm 1965; trong những năm 90 của thế kỷ XX, tỷ lệ xác định VNNB ở trẻ có HCVNC là 18-30%. VNNB là bệnh do muỗi truyền liên quan đến vùng trồng lúa, Campuchia là quốc gia thuần nông, khoảng 80% dân số sống ở vùng nông thôn và 90% trong số này sản xuất nông nghiệp là lúa nước. Trong thập niên đầu tiên của thế kỷ XXI tỷ lệ xác định căn nguyên vi rút

VNNB trong số các ca HCVNC là 19%, dao động từ 13% đến 35% [133]. Tại nhiều quốc gia châu Á, vi rút VNNB vẫn là căn nguyên hàng đầu gây HCVNC như Ấn Độ, Philippines, Malaysia, Thái Lan, Đài Loan và Việt Nam [59], [70], [79], [108], [110].

Tại Ấn Độ, một nghiên cứu dịch tễ học và nguyên nhân gây HCVNC ở miền Bắc Ấn Độ đã phát hiện các tác nhân vi rút VNNB, vi rút Dengue, vi rút Herpes, vi rút sởi, vi rút quai bị, vi rút hợp bào đường hô hấp. Tỷ lệ phát hiện được căn nguyên vi rút gây HCVNC là 58,3%, trong số đó VNNB được phát hiện phổ biến nhất, sau đó là vi rút Dengue, Herpes, sởi, quai bị và vi rút hợp bào đường hô hấp, nhưng không có ca bệnh HCVNC nào do vi rút đường ruột. Tỷ lệ tử vong cao nhất là do vi rút VNNB, còn những người bệnh bị HCVNC do vi rút Herpes có tỷ lệ di chứng thần kinh cao. Sự phân bố ca bệnh liên quan đến tuổi, giới tính thay đổi theo địa lý và theo mùa. Vi rút VNNB và vi rút Dengue là tác nhân gây bệnh chính của HCVNC ở miền Bắc Ấn Độ [72].

Tại miền Nam Việt Nam, một nghiên cứu 12 năm xác định căn nguyên gây HCVNC người lớn cho thấy tỷ lệ phát hiện được nguyên nhân là 38,2%, tỷ lệ tử vong là 10%, tỷ lệ di chứng thần kinh là 27%. Trong đó vi-rút VNNB, vi rút Dengue, vi rút Herpes và vi rút đường ruột là nguyên nhân hàng đầu được xác định gây HCVNC [129]. Nghiên cứu trên đối tượng trẻ em mắc HCVNC, cho thấy 41% phát hiện được nguyên nhân vi rút gây HCVNC, tỷ lệ tử vong 27%. Tác nhân vi rút chính gây HCVNC ở trẻ em là vi rút VNNB, tiếp theo là vi rút đường ruột, vi rút Dengue, vi rút Herpes, vi rút Cytomegalo và vi rút cúm A đã được ghi nhận ở miền Nam Việt Nam [115]. Nghiên cứu tại Sơn La, một trong các tỉnh miền núi phía Bắc Việt Nam năm 2015, xác định được căn nguyên vi rút gây HCVNC là 54,5%, trong đó VNNB là 49,4%, vi rút Herpes là 2,8% và vi rút đường ruột rất thấp, chỉ có 2,3% [12]. Dương Thị Hiền, 2020 [21] cũng ghi nhận hiện tượng đồng nhiễm tác nhân gây bệnh: trong tổng số 594 ca HCVNC, xác định được nguyên nhân là 302/594 (50,84%), trong đó có 32/594 (5,39%) ca dương tính với hơn một tác nhân gây bệnh. Trong phần lớn số ca đồng nhiễm, phát hiện có IgM kháng BAV, VNNB và NDiV. Tại Bihar Ấn Độ, trong nghiên cứu phát hiện tác nhân vi rút gây HCVNC cho thấy hiện tượng dương

tính với hơn một tác nhân gây bệnh là 23,3% [90]. Tại miền Nam Việt Nam, tỷ lệ đồng nhiễm được xác định là 8% trong nghiên cứu 12 năm xác định căn nguyên gây HCVNC [129]. Hiện tượng đồng nhiễm có thể do các tác nhân vi rút có cùng véc tơ truyền bệnh như muỗi Culex là véc tơ chung của vi rút VNNB, BAV và NDiV [11], [123], [103]. Ngoài ra, điều kiện vệ sinh môi trường không đảm bảo dẫn đến hiện tượng đồng nhiễm trong HCVNC do vi rút đường ruột [3].

Để chủ động phòng chống bệnh VNNB, từ năm 1997 vắc xin VNNB được đưa vào tiêm chủng mở rộng với diện triển khai tại 12 tỉnh, thành phố thuộc vùng có nguy cơ cao (mỗi tỉnh một huyện). Diện triển khai được mở rộng hàng năm, đến năm 2014 vắc xin VNNB được triển khai tại tất cả các huyện thuộc 63 tỉnh thành phố dưới hình thức tiêm chủng theo đợt. Từ năm 2015, vắc xin VNNB chính thức được triển khai trong tiêm chủng mở rộng hàng tháng. Sơn La, Điện Biên và Lào Cai là những địa phương thuộc khu vực miền núi, giao thông cách trở, địa bàn có nhiều đồng bào các dân tộc cùng sinh sống, tuy nhiên, công tác tiêm chủng mở rộng nói chung và tiêm vắc xin phòng VNNB nói riêng được triển khai tương đối tốt. Theo đánh giá của WHO năm 2015, Việt Nam nằm trong số 9 quốc gia triển khai tiêm chủng vắc xin phòng VNNB trên quy mô toàn quốc [67]. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra tỷ lệ dương tính với VNNB trên tổng số mẫu xét nghiệm tại Sơn La là 12,1% thấp nhất trong 3 tỉnh. Năm 2015, Sơn La ghi nhận tỷ lệ dương tính với VNNB rất cao, tới 49,4%. Sau đó, với việc triển khai đồng bộ các biện pháp phòng chống dịch, đặc biệt là việc đẩy mạnh công tác tiêm chủng mở rộng thường xuyên cũng như các chiến dịch tiêm chủng vắc xin phòng VNNB cho các đối tượng nguy cơ cao, tỷ lệ mắc VNNB tại địa phương này đã có chiều hướng giảm rõ rệt. Theo báo cáo của Trung tâm Kiểm soát bệnh tật tỉnh Sơn La năm 2020, tỷ lệ dương tính với VNNB của địa phương này đã giảm chỉ còn 15% (giảm 3,3 lần so với năm 2015). Và đó là lý do tỷ lệ dương tính với VNNB ở Sơn la thấp hơn so với hai tỉnh còn lại.

Bên cạnh vi rút VNNB, nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận một tỷ lệ tương đối cao các ca dương tính với các VRĐR trên các mẫu bệnh phẩm thu thập là 14,3% (bao gồm mẫu dương tính với VRĐR và mẫu đồng nhiễm VNNB – VRĐR).

Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu ở một số tỉnh khu vực miền Bắc, ở Bắc Giang tỷ lệ này là 13,13% [19], cao hơn tỷ lệ ở Sơn La năm 2015 (2,3%) [16]; Bệnh tay chân miệng, tác nhân EV71 có thể gây diễn biến nặng và biến chứng nguy hiểm, vì vậy đối với VNVR cần tăng cường giám sát, nghiên cứu thêm về đặc điểm lâm sàng các ca VNVR do các VRĐR, từ đó có khuyến cáo phòng bệnh phù hợp. Nghiên cứu đã phát hiện 11 típ huyết thanh gây bệnh của VRĐR trong đó chiếm tỷ lệ cao hơn là CA6 và EV-A71. Tỷ lệ mẫu dương tính với VRĐR ở lứa tuổi 5-14 chiếm đa số, đến 48,49% tổng số ca dương tính với VRĐR. Không có ca bệnh dương tính nào phát hiện ở nhóm ca bệnh từ 60 tuổi trở lên. Một nghiên cứu tại Trung Quốc tiến hành xét nghiệm trên 261 ca VNVR ở bệnh nhi, tỷ lệ dương tính với vi rút lên tới 52,5%, trong đó đã ghi nhận VRĐR là tác nhân chính (27,7%) trong số các tác nhân gây VNVR ở trẻ em [42]. Trong nghiên cứu của chúng tôi không có ca bệnh nào có kết quả dương tính với VRĐR đồng thời trên hai loại mẫu phân và dịch não tủy. Trong số 34 mẫu phân và 4 mẫu dịch não tủy dương tính với VRĐR, có 22 mẫu phân và 2 mẫu dịch não tủy xác định thành công kiểu gen (serotype) VRĐR. Hai mẫu dịch não tủy được xác định là E-6 và E-11. 22 mẫu phân được xác định gồm EV-A71, các vi rút Cocksackie A CV-A6, 10, 20, 24, các vi rút ECHO E-6, 11, 18, vi rút CV-B5, EV-B73, EV-B80, EV-C96 và PV-3. Như vậy, có tất cả 13 kiểu VRĐR được xác định, trong đó, kiểu VRĐR nổi trội nhất là CV-A6 và E-6, cùng chiếm 16,67% tổng số mẫu được định típ, tiếp theo là EV-A71 (12,5%) và ba serotype CV-A24, CV-B5 và E-11 (cùng chiếm 8,33%). Ba kiểu VRĐR E-6, CV-A6 và EV-A71 được phát hiện ở hai tỉnh khác nhau trong cùng một năm hoặc hai năm khác nhau.

Hầu hết các vi rút đường ruột (VRĐR) lây nhiễm từ người sang người qua đường tiêu hóa và gây ra các triệu chứng nhẹ. Nhưng một số VRĐR có thể xâm nhập vào hệ thống thần kinh trung ương và dẫn đến các triệu chứng thần kinh khác nhau có liên quan đến tử vong do nhiễm vi rút đường ruột. Từ những báo cáo đầu tiên những năm 1950 về HCVNC do VRĐR, cho đến những năm gần đây, các ổ dịch lớn do VRĐR đã xảy ra trên toàn thế giới [91], [133], [134]. Vi rút đường ruột xâm nhập vào người qua đường tiêu hóa, có thể không biểu hiện bệnh, nhưng cũng có thể gây

ra bệnh cảnh lâm sàng khá đa dạng như viêm cơ tim, viêm tụy và viêm cơ mãn tính. Không phải tất cả các VRĐR đều gây HCVNC ở người, chỉ có Coxsackie A, vi rút Coxsackie B, các vi rút ECHO (Enteric Cytopathic Human Orphan) và một số tít vi rút đường ruột EV-71, EV-75, EV-76, EV-89 được ghi nhận là tác nhân gây HCVNC cho người. Trong số các VRĐR gây HCVNC, EV-71 là tác nhân có liên quan đến sự bùng phát lan rộng của bệnh tay chân miệng trên toàn khu vực Châu Á Thái Bình Dương từ năm 1997 cho đến nay bao gồm cả những báo cáo rải rác về người bệnh HCVNC. Sốc thần kinh với phù phổi là một biến chứng gây tử vong do nhiễm EV-71. Nhiều trẻ em và trẻ sơ sinh đã chết do biến chứng thần kinh nghiêm trọng trong các dịch bệnh này, và nhiễm EV-71 đã trở thành một vấn đề sức khỏe cộng đồng lớn ở khu vực [91], [133]. Các bệnh cảnh thần kinh do VRĐR rất đa dạng như viêm màng não, viêm não, viêm não-màng não, hiếm gặp hơn là liệt mềm giống bại liệt, hội chứng run giật cơ-thất điều, viêm thân não và tăng áp lực nội sọ lành tính.

Các ca bệnh HCVNC do VRĐR được báo cáo rải rác, tại bệnh viện Nhi Trung ương HCVNC do vi rút đường ruột là căn nguyên gây viêm não cho trẻ em đứng hàng thứ 3 sau VNNB và vi rút Herpes [1]. Trong nghiên cứu tại Bắc Giang, trong tổng số 594 ca mắc HCVNC giai đoạn 2004-2017 có 78 ca do VRĐR, chiếm 13,13%. Quan sát tất cả các năm, tỷ lệ xác định căn nguyên HCVNC do vi rút đường ruột theo năm dao động trong khoảng từ 2,22% đến 21,15%. Những năm có ca mắc HCVNC do vi rút đường ruột trên 15% là 2007, 2012, 2015, 2016. Như vậy cứ sau 3-5 năm lại có chu kỳ mắc với tỷ lệ cao hơn [21].

Tỷ lệ xác định HCVNC do vi rút đường ruột khác nhau tùy theo vùng địa lý, kết quả nghiên cứu xác định căn nguyên HCVNC do vi rút đường ruột tại miền Trung giai đoạn 2015- 2017 là 11,2%, miền Nam giai đoạn 1996 - 2008 là 9,3% [21, 39], tại Sơn La năm 2015 là 2,3% [29]. Tuy nhiên, tại Sơn La, nghiên cứu chỉ tiến hành trong 1 năm nên tỷ lệ phát hiện VRĐR khác biệt do thời gian nghiên cứu tại Bắc Giang dài hơn. Vì vậy, đối với việc xác định vai trò gây HCVNC của VRĐR, các nghiên cứu cần được tiến hành trong nhiều năm để tránh bị nhiễu do tỷ lệ lưu hành khác nhau giữa các năm. Mặc dù có sự khác biệt về tỷ lệ phát hiện căn nguyên VRĐR

gây HCVNC ở các khu vực địa lý nhưng các nghiên cứu đều chỉ ra rằng VRĐR là một trong số căn nguyên gây HCVNC cần được quan tâm để dự phòng bằng các biện pháp thông dụng như vệ sinh tay trước khi ăn... vì chưa có vắc xin.

Phân bố ca mắc HCVNC do VRĐR tại Bắc Giang gặp cả ở 10/10 huyện, thành phố của tỉnh với số ca mắc cao ở khu vực miền núi và khu vực trung du, còn ở khu vực thành phố tỷ lệ mắc thấp hơn. Có thể ở khu vực miền núi điều kiện vệ sinh và trình độ dân trí thấp hơn so với khu vực thành phố nên tỷ lệ mắc bệnh truyền nhiễm nói chung và bệnh HCVNC do VRĐR nói riêng cao hơn [21].

VRĐR lưu hành rộng rãi ở vùng khí hậu nhiệt đới hoặc cận nhiệt đới (ôn đới). Ở những vùng khí hậu ôn đới, với tác động rất hiệu quả của vắc xin phòng bệnh bại liệt cùng tình trạng vệ sinh được cải thiện, thêm vào đó trẻ sơ sinh được chăm sóc tại nhà, nguy cơ tiếp xúc tác nhân vi sinh gây bệnh nói chung và VRĐR nói riêng thấp, do vậy ít ghi nhận được bệnh lý trẻ sơ sinh bị HCVNC do VRĐR. Nhưng khi trẻ lớn hơn, môi trường nhà trẻ, xã hội là nguyên nhân làm cho HCVNC do VRĐR có xu hướng xảy ra phổ biến hơn, đặc biệt là sự bùng phát của bệnh tay chân miệng, các biểu hiện HCVNC do EV-71 cũng đã được ghi nhận [105]. Các dấu hiệu chẩn đoán dựa vào yếu tố dịch tễ, biểu hiện lâm sàng, các dấu hiệu cận lâm sàng và các chỉ số hóa sinh trong dịch não tủy. Tuy nhiên, chẩn đoán xác định phụ thuộc vào phương pháp chẩn đoán phòng thí nghiệm, chủ yếu là khuếch đại vật liệu di truyền của vi rút đường ruột trong dịch não tủy của người bệnh HCVNC [107]. Sự khác nhau về tỷ lệ HCVNC do VRĐR theo vùng địa lý cũng đã được khẳng định trong kết quả nghiên cứu tại một số quốc gia trên thế giới. Như tại Hoa Kỳ, trong một nghiên cứu dịch tễ học HCVNC giai đoạn 2011-2014 cho thấy VRĐR là căn nguyên phổ biến nhất gây HCVNC, tỷ lệ xác định HCVNC do VRĐR chiếm 51,6% [81]. Còn tại Anh, tỷ lệ xác định HCVNC do VRĐR là 33%, với số mắc được ghi nhận chủ yếu vào mùa hè và thời gian giao mùa giữa mùa hè và mùa đông, số mắc cao là trẻ em <15 tuổi chiếm 58%. Tỷ lệ số mắc HCVNC do VRĐR ở trẻ em cao gấp 2 lần so với người lớn. Đặc biệt, trẻ nhỏ <3 tháng tuổi chiếm 23% trong số các bệnh nhiễm trùng do VRĐR và

37% các ca nhiễm VRĐR ở trẻ em; Sau tuổi này, tỷ lệ số mắc HCVNC do VRĐR giảm nhanh chóng, với một đỉnh thấp hơn ở những người tuổi từ 25 đến 44 [82].

Tại Trung Quốc, căn nguyên gây HCVNC đã được xác nhận ở 42,8%- 52,5% tổng số ca bệnh. Tác nhân do VRĐR là 27,7%-37,7% trong tổng số ca HCVNC do vi rút. VRĐR là nguyên nhân hàng đầu gây HCVNC ở trẻ em. Tỷ lệ xác định di chứng và tỷ lệ tử vong trong số các ca HCVNC do VRĐR tương ứng là 7,5% và 0,8%. Như vậy, HCVNC do VRĐR chiếm khoảng trên 20% ở các vùng dịch tễ của Trung Quốc [42].

Phân bố ca mắc HCVNC do VRĐR theo mùa khá rõ rệt, trong nghiên cứu tại Bắc Giang, số ca mắc HCVNC do VRĐR xuất hiện từ tháng 4 đến tháng 9 trong năm. Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với một số tác giả nghiên cứu trong nước và quốc tế [42],[65]: HCVNC do VRĐR thường tăng cao vào mùa hè, do điều kiện khí hậu thuận lợi cho sự nhân lên của vi sinh gây bệnh, đặc biệt ở những quốc gia có điều kiện vệ sinh môi trường chưa tốt, thực hành vệ sinh cá nhân chưa đảm bảo, làm tăng cường bệnh truyền nhiễm nói chung, bệnh lây theo đường phân miệng nói riêng.

Trong nghiên cứu tại Bắc Giang, phân bố ca mắc HCVNC do VRĐR gặp ở tất cả các nhóm tuổi, tập trung mắc cao ở nhóm dưới 10 tuổi, nam mắc cao hơn 2 lần so với nữ giới [21]. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu đặc điểm HCVNC do vi rút đường ruột tại bệnh viện Nhi Trung ương, tuổi mắc bệnh trung bình là 5,7 tuổi, số mắc ở nam cao hơn nữ, ca bệnh rải rác quanh năm nhưng số mắc cao thường được ghi nhận từ tháng 4 đến tháng 6 trong năm [1]. Tại Trung Quốc, tuổi trung bình của HCVNC do vi rút là $5,88-6,39 \pm 3,6$. Tỷ lệ nam cao hơn tỷ lệ mắc ở nữ từ 1,97 - 2,24 lần [42].

Như vậy, VRĐR là một trong số những nguyên nhân hàng đầu gây HCVNC ở trẻ em, tùy theo vùng địa lý mà có tỷ lệ mắc khác nhau, tại Bắc Giang VRĐR là một trong 3 căn nguyên chính gây HCVNC sau vi rút VNNB và vi rút Banna nên cần có những biện pháp can thiệp và dự phòng đối với tác nhân gây bệnh trực tiếp qua đường tiêu hóa để bảo vệ sức khỏe cộng đồng một cách hiệu quả nhất.

Nghiên cứu cũng phát hiện một tỷ lệ dương tính với các tác nhân gây viêm não cấp như Herpes (HSV) (0,27%), Dengue (1,45%) và hCMV (0,53%). Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trong và ngoài nước phát hiện một tỷ lệ đáng kể các ca dương tính với các tác nhân vi rút khác gây VNVR. Tỷ lệ dương tính trong nghiên cứu đối với vi rút Herpes là thấp hơn so với một vài nghiên cứu trong nước. Nghiên cứu trên 624 ca nhập viện tại Việt Nam năm 2012 cho tỷ lệ dương tính với vi rút Herpes là 2% [107]; nghiên cứu các ca Viêm não vi rút ở tỉnh Sơn La có tỷ lệ dương tính với vi rút HSV là 2,8% [16], ở khu vực miền Trung là 10,7% [25]. Vi rút Herpes mặc dù chưa có vắc xin nhưng có thể điều trị đặc hiệu bằng thuốc kháng vi rút (acyclorvir), do vậy, việc chẩn đoán VNVR do HSV sớm có thể giúp điều trị hiệu quả, tránh di chứng, biến chứng cho người bệnh. Đối với vi rút Dengue, mặc dù là tác nhân gây bệnh sốt xuất huyết lưu hành phổ biến tại Việt Nam và hiện chưa có vắc xin phòng bệnh, tuy nhiên cũng chỉ ghi nhận một số ca Sốt xuất huyết Dengue ở khu vực miền núi phía Bắc [25]. Tại 3 tỉnh Tây Bắc trong nghiên cứu này, sự lưu hành của véc tơ chính truyền bệnh Sốt xuất huyết Dengue rất hiếm và chỉ số mật độ thấp (ngoại trừ huyện Mai Châu của Sơn La những năm gần đây có phát hiện sự có mặt của *Aedes aegypti*) không thuận lợi cho sự lan truyền của Sốt xuất huyết Dengue. Trong hai năm của nghiên cứu này, chúng tôi phát hiện được 1 ca dương tính với vi rút Dengue trên người bệnh VNVR. Ngoài ra cũng phát hiện được 2 ca dương tính với vi rút hCMV. Kết quả nghiên cứu ở Tây Bắc cho thấy bên cạnh công tác giám sát vi rút VNNB đang được thực hiện, cũng cần quan tâm giám sát một số tác nhân khác có khả năng gây bệnh và phổ biến tại khu vực, từ đó có biện pháp dự phòng hiệu quả. Như đã đề cập trong phần đặt vấn đề, căn nguyên gây HCVNC rất đa dạng như vi khuẩn, vi rút, nấm, ký sinh trùng, hóa chất, rối loạn chuyển hóa, phản ứng tự miễn sau tiêm vắc xin... [1], [71], [105], [113]. Tuy nhiên, có hơn 60% các ca HCVNC không xác định được căn nguyên gây bệnh [47], [69], [72], [86]. Tại Ấn Độ, chỉ có khoảng 20 - 30% số ca HCVNC xác định được căn nguyên [63]. Đến nay đã xác định được trên 100 loại vi rút có khả năng gây VNVR với sự phân bố khác nhau và chiếm khoảng 70% tổng số tác nhân chẩn đoán được [138]. Solomon và cộng sự, 2007 đã

thống kê một số tác nhân vi rút gây viêm não đặc trưng cho các lục địa, như: khu vực châu Á là vi rút Viêm não Nhật Bản (VNNB), vi rút Tây sông Nin, vi rút Nipah; khu vực châu Âu và châu Mỹ lưu hành một số loại vi rút gây viêm não phổ biến như vi rút do ve truyền, vi rút Tây sông Nin, vi rút Toscana, vi rút dại, vi rút Dengue, vi rút St. Louis, vi rút Rocio; trong khi đó ở châu Phi là vi rút Tây sông Nin, vi rút dại, vi rút sốt thung lũng Rift, vi rút sốt xuất huyết Công-gô, vi rút Dengue, vi rút Chikungunya [7] [121]. Kết quả nghiên cứu khác cũng chỉ ra một tỷ lệ không nhỏ các ca mắc viêm não do vi rút Herpes, vi rút đường ruột (VRĐR) hay vi rút Dengue [138] [42] [97]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tại 3 tỉnh Tây Bắc với 3 loại mẫu bệnh phẩm mới chỉ xác định được tác nhân vi rút gây VNVR của 28,5% số mẫu thu thập được, trong đó tỷ lệ dương tính với tác nhân vi rút VNNB là cao nhất (22,4%); tiếp theo là VRĐR (14,3%). Các tác nhân vi rút khác cũng được ghi nhận với tỷ lệ thấp bao gồm vi rút Dengue (1,4%), vi rút hCMV (0,53%) và vi rút HSV (0,27%). Như vậy, vẫn còn tới hơn 70% chưa xác định được tác nhân gây bệnh. Đặc biệt, trong tổng số 17 ca tử vong tại 3 tỉnh, mới xác định được tác nhân gây bệnh của 7 ca, số còn lại chưa xác minh được cần tiếp tục nghiên cứu tiếp trong thời gian tới. Một phương pháp mới (peptidomic) phát hiện peptid của tác nhân gây bệnh trong máu của người bệnh VNVR đang được phối hợp nghiên cứu giữa các nhà khoa học Viện VSDTTU' và trường đại học Hadassah Hebrew (Israel) tại các tỉnh Tây Bắc trong những năm tới, hy vọng sẽ cung cấp bổ sung danh mục các tác nhân mới gây VNVR giúp hỗ trợ chẩn đoán và điều trị VNVR hiệu quả hơn.

4.2.2. Sự có mặt của muỗi truyền bệnh VNNB tại khu vực nghiên cứu

4.2.2.1. Sự phân bố của muỗi véc tơ truyền bệnh VNNB

Solomon và cộng sự, 2007 đã xác định tác nhân vi rút gây viêm não đặc trưng cho khu vực châu Á trong đó có Việt Nam là vi rút Viêm não Nhật Bản [121]. Vi rút VNNB không lây trực tiếp từ người sang người mà lây qua muỗi truyền. Vì vậy, để xác định sự lưu hành của bệnh tại điểm nghiên cứu chúng tôi đã tiến hành điều tra sự có mặt của các loài muỗi và bọ gây muỗi véc tơ truyền VNNB. Có nhiều loài muỗi được xác định là véc tơ truyền vi rút VNNB, trong đó chỉ có một số ít loài là véc tơ

quan trọng. Nhiều nghiên cứu ở các nước có bệnh VNNB lưu hành đã xác định những loài muỗi đóng vai trò quan trọng làm lây truyền vi rút VNNB là *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. vishnui*, *Cx. gelidus*, *Cx. pseudovishnui*, *Cx. fuscocephalus* và *Cx. pipiens*. Trong đó hai loài muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* được xác định là véc tơ chủ yếu truyền vi rút VNNB cho người ở khu vực châu Á. Ngoài ra ít nhất có 11 loài muỗi khác có thể nhiễm vi rút thử nghiệm trong phòng thí nghiệm. Vi rút VNNB cũng đã được phát hiện ở nhiều loài muỗi trên đồng ruộng. Theo David W. Vaughn thì có hơn 17 loài muỗi truyền bệnh VNNB, trong đó có 2 loài *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* là véc tơ có khả năng truyền bệnh cao nhất [100].

Những năm gần đây tình hình Viêm não vi rút có xu hướng chuyển từ các tỉnh phía Đông Bắc sang Tây Bắc, đặc biệt là các tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai. Có nhiều tác nhân gây VNVR (như vi rút đường ruột, vi rút Herpes, vi rút Coxacki, vi rút VNNB...), trong đó vi rút VNNB thường chiếm khoảng 30% và được truyền qua muỗi. Điều tra sự lưu hành của muỗi véc tơ truyền bệnh tại các địa phương này để giúp định hướng công tác phòng chống hiệu quả hơn. Kết hợp tiêm vắc xin VNNB cho đối tượng nguy cơ với làm giảm nguồn véc tơ truyền bệnh và sự tiếp xúc người-véc tơ-vật chủ tại cộng đồng.

Kết quả thu thập muỗi cho thấy có 8 loài muỗi được ghi nhận tại điểm nghiên cứu thuộc 5 giống. Số muỗi thu được nhiều nhất tại tỉnh Điện Biên với 1.561 cá thể (43,4%), tiếp theo là Lào Cai 1.476 cá thể (41,2%), thấp nhất tại tỉnh Sơn La 563 cá thể (15,6%). Số cá thể muỗi ghi nhận nhiều nhất là giống *Culex* (*Cx*). 4 loài muỗi thuộc giống *Culex* trong đó có 3 loài có khả năng truyền bệnh VNNB là *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. vishnui* và *Cx. fuscocephalus* đều có mặt tại các địa điểm nghiên cứu. Trong giống *Culex*, muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* chiếm tỷ lệ cao nhất 72,98%, tiếp theo là *Cx. vishnui* 24,91% (hai loài muỗi chính truyền VNNB). Hai loài muỗi này có mặt ở cả 3 tỉnh nghiên cứu. Các loài muỗi *Cx. quinquefasciatus* và *Cx. fuscocephalus* chiếm tỷ lệ rất thấp (0,48 và 1,63%). Như vậy, hai loài muỗi là véc tơ chính VNNB đều hiện diện tại 3 tỉnh Tây Bắc. Cùng với sự lưu hành của vi rút VNNB trong quần thể vật chủ (lợn, chim hoang dã) đã gây nên các vụ dịch VNNB lưu hành

địa phương tại các tỉnh Tây Bắc. Tại các tỉnh Tây Nguyên giai đoạn 2005-2018 cũng đã xác định được 9 loài muỗi thuộc giống *Culex* trong đó hai loài muỗi véc tơ chính VNNB là *Culex tritaeniorhynchus* và *Culex vishnui* chiếm ưu thế (43,06% và 36,17%). Tại đây tác giả đã phân lập được 9 chủng vi rút từ muỗi *Culex*, khẳng định vai trò truyền VNNB của muỗi *Culex* [39].

Trên thế giới có nhiều loài muỗi có thể truyền vi rút VNNB, trong đó quan trọng nhất là các loài thuộc giống *Culex*, và chủ yếu là *Culex tritaeniorhynchus* và *Culex vishnui*. Muỗi này trú đậu ngoài nhà, sinh sản ở các thủy vực. Hoạt động hút máu vào ban đêm, chủ yếu vào đầu giờ tối (khi gà lên chuồng), thích hút máu động vật như trâu, bò, lợn, gia cầm và cũng đôi khi chủ động hút máu người. Do vậy chúng ta thấy VNNB thường là rải rác, ở những nơi có chăn nuôi, trồng lúa nước, không có dịch lớn với nhiều người mắc và tập trung như bệnh SXHD. Kết quả nghiên cứu cho thấy muỗi VNNB bắt được chủ yếu ở vùng nông thôn, chỉ số mật độ (Bảng 3.13) cao ở chuồng gia súc, đặc biệt là muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui*. Trung bình mật độ muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* ở chuồng gia súc cao hơn ở trong nhà lần lượt là 19,5 và 11,8 lần. Muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* có mật độ cao nhất tại Điện Biên, tiếp theo là Lào Cai và thấp nhất tại Sơn La. Đối với muỗi *Cx. vishnui* chỉ số mật độ muỗi cao nhất tại Lào Cai, tiếp theo là Điện Biên và thấp nhất tại tỉnh Sơn La.

Về tỷ lệ thành phần các loài muỗi véc tơ, ở miền Bắc Việt Nam, cho đến nay đã xác định được 3 loài muỗi là véc tơ truyền bệnh Viêm não Nhật Bản: *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. vishnui*, và *Cx. gelidus*. Muỗi hút máu động vật nhiễm vi rút VNNB trong thời kỳ nhiễm vi rút huyết, và có khả năng truyền vi rút suốt đời và có thể truyền vi rút sang thế hệ sau qua trứng [2], [138]. Trong các điều tra về muỗi ở Việt Nam thì tỷ lệ các loài muỗi véc tơ truyền bệnh VNNB bao giờ cũng cao so với các loài muỗi khác. Và nhìn chung, mật độ muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* bao giờ cũng cao hơn mật độ muỗi *Cx. vishnui* và *Cx. gelidus* cả ở chuồng gia súc và trong nhà ở [27].

Vũ Sinh Nam, Hoàng Kim, Nguyễn Thị Yên, Nguyễn Tú Bìn, Nguyễn Thị Liên nghiên cứu ở một số tỉnh thành miền Bắc Việt Nam từ năm 1985 đến năm 1988 cho thấy: muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* phân bố rộng rãi từ đồng bằng, thành phố tới các vùng trung du và miền núi. Tỷ lệ các điểm có muỗi này giảm dần theo thứ tự trên. Các tác giả cũng nhận định, một trong những yếu tố dẫn đến tỷ lệ các điểm có muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* giảm dần từ đồng bằng, thành phố tới các vùng trung du và miền núi là do sự thu hẹp diện tích trồng lúa ở các tỉnh trung du và miền núi [27]. Tương tự, tại Hà Nam, 2006 -2007 bắt được 30.333 muỗi gồm 5 giống và 15 loài; trong đó muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. annulus* là véc tơ chính truyền bệnh VNNB chiếm tỷ lệ cao nhất trong các loài muỗi bắt được [36]. Nghiên cứu tỷ lệ thành phần loài muỗi tại 14 ổ dịch VNNB ở miền Bắc Việt Nam, 1985-1988 và tại Cát Quế, Hà Tây, 2001-2002, Vũ Sinh Nam và cộng sự một lần nữa khẳng định vai trò truyền VNNB của của các loài muỗi *Culex*: *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. wishnui* và *Cx. gelidus* [121].

Các yếu tố thời tiết, khí hậu, và tình hình canh tác có tác động rất lớn đến sự sinh sản và phát triển của muỗi véc tơ Viêm não Nhật Bản. Ở vùng nhiệt đới, muỗi véc tơ Viêm não Nhật Bản phát triển quanh năm, thường mạnh vào các tháng mùa hè. Việc tưới tiêu trên đồng ruộng cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của muỗi Viêm não Nhật Bản. Làm mạ, bón phân và cấp nước là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của muỗi VNNB. Trong nghiên cứu này, thời gian điều tra từ tháng 5 đến tháng 7 là các tháng hội tụ những điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của muỗi. Vũ Sinh Nam và cộng sự (1985-1988) đã cho thấy: muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản (*Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui*) phát triển quanh năm, nhiều nhất từ tháng 6 đến tháng 9, có hai đỉnh cao là tháng 4 và tháng 8 trong năm [27]. Nghiên cứu tại Gia Lương, Hà Bắc năm 1994, Nguyễn Thu Yến cũng có kết quả tương tự: muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* phát triển quanh năm và tập trung chủ yếu trong chuồng gia súc. Các chỉ số muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* bắt đầu tăng cao từ tháng 3 (3,02 con/chuồng và 55,17% chuồng gia súc có muỗi), đỉnh cao nhất vào tháng 7 (8,07 con/chuồng và 56,14% chuồng có muỗi) [40]. Muỗi *Cx. vishnui* cũng phát triển

tương tự như *Cx. tritaeniorhynchus*, nhưng đỉnh cao xuất hiện sớm hơn vào tháng 5 và có mật độ quần thể thấp hơn. Nghiên cứu này cho kết quả tương đồng với các nghiên cứu nêu trên với sự hiện diện của 2 loài muỗi truyền VNNB *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* ở cả ba tỉnh điều tra với mật độ cao ở chuồng gia súc, đồng thời cũng hiện diện cả trong nhà ở của người dân. Kết quả cũng cho thấy số lượng muỗi véc tơ VNNB thu thập được phụ thuộc vào nơi bắt muỗi, vùng dân cư và phương tiện thu thập muỗi: muỗi tập trung chủ yếu trong các chuồng gia súc như trâu bò, lợn, giảm dần ở chuồng gia cầm và trong nhà ở. Điều đó chứng tỏ các loài muỗi ưa thích hút máu động vật như trâu bò, lợn hơn hút máu người. Đặng Đình Thoảng nghiên cứu tại Hà Nam, 2007 cho thấy muỗi véc tơ VNNB phát triển quanh năm, nhưng tăng cao từ tháng 3 đến tháng 8 trong năm cả ở trong nhà và chuồng gia súc [36]. Thời gian này liên quan đến canh tác trên đồng ruộng, các ruộng lúa có nước cũng là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của muỗi. Muỗi truyền bệnh VNNB thường hoạt động hút máu vào ban đêm, mạnh nhất là từ 18 giờ đến 22 giờ và tiêu sinh ở ngoài nhà, nên ít khi bắt được muỗi này ở trong nhà vào ban ngày; cũng chính vì vậy việc giám sát để đánh giá các chỉ số muỗi véc tơ truyền bệnh VNNB được thực hiện vào ban đêm. Tuy nhiên vào các thời gian bất thường như trời giá rét hoặc mùa muỗi có chỉ số mật độ cao thì muỗi véc tơ VNNB cũng chủ động vào nhà đậu nghỉ ban ngày. Tác giả Vũ Sinh Nam, Nguyễn Thị Yên và cộng sự (1985-1988) đã ghi nhận hiện tượng bất thường khi nghiên cứu tại Đông Anh, Hà Nội và Đông Sơn, Thanh Hóa: muỗi VNNB đã vào đậu nghỉ ban ngày ở những thời điểm giá rét (nhiệt độ dưới 15⁰C) hoặc vào mùa muỗi có chỉ số mật độ cao, và vì vậy kết quả điều tra muỗi ban ngày và ban đêm ở các điểm thực địa này là tương đương nhau [27].

Muỗi truyền bệnh VNNB còn được gọi là muỗi đồng ruộng vì sinh sản và phát triển ở đồng ruộng là chủ yếu. Nơi sinh sản của chúng rất đa dạng nhưng chủ yếu là ở các ruộng lúa nước. Muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* có thể bay xa tới hơn 1,5 km và chúng được phát hiện ở ngọn cây cao trên mặt đất khoảng 13 mét đến 15 mét, là nơi mà vi rút VNNB có thể lây truyền giữa các loài chim. *Cx. tritaeniorhynchus* không những có thể truyền vi rút VNNB cho vật chủ mà còn có thể truyền vi rút cho các thế

hệ sau qua trứng. Các loại thủy vực muối véc tơ hay đẻ trứng là ruộng lúa nước, ruộng mạ, hồ (vũng) nước nhỏ, mương máng nhỏ, dụng cụ chứa nước quanh nhà vùng nông thôn [27] .

Kết quả điều tra ổ bọ gậy muỗi VNNB tại 3 tỉnh Tây Bắc cho thấy có sự hiện diện bọ gậy của 4 loài muỗi: *Cx. tritaeniorhynchus*; *Cx. vishnui*; *Cx. quinquefasciatus* và *Cx. fuscocephalus*. Tỷ lệ các thủy vực ruộng lúa nước, mương dẫn nước, vũng nước đọng và dụng cụ chứa nước của người dân có bọ gậy muỗi *Culex* lần lượt là 81,8%; 47,2%; 1,1% và 2,0%. Trong đó, bọ gậy *Cx. tritaeniorhynchus* có mặt ở tất cả các chủng loại thủy vực và có số lượng cao nhất, tập trung chủ yếu ở ruộng lúa nước. Tiếp theo là bọ gậy muỗi *Cx. vishnui* phân bố chủ yếu tại ruộng lúa nước, có mặt ở các mương nước và DCCN gia đình. *Cx. quinquefasciatus* phân bố ở tất cả các chủng loại thủy vực, tập trung chủ yếu ở vũng nước đọng và DCCN gia đình. *Cx. fuscocephalus* có mặt ở ruộng lúa nước và DCCN gia đình nhưng với số lượng và mật độ không đáng kể. Kết quả điều tra cho thấy số lượng bọ gậy bắt được nhiều hơn khi mực nước của ruộng thấp hơn 10cm và có cây thủy sinh so với ruộng có mực nước cao hơn 10cm và không có cây thủy sinh ($P < 0,01$). Ở những thủy vực quanh nhà có thêm các cây thủy sinh cũng tạo điều kiện tốt cho bọ gậy muỗi phát triển, và số lượng bọ gậy thu thập từ các thủy vực này cao hơn những thủy vực không có cây thủy sinh. Nghiên cứu mối tương quan giữa mật độ bọ gậy muỗi véc tơ truyền bệnh Viêm não Nhật Bản và một số yếu tố sinh thái tại Phú Mãn, Hà Tây, Vũ Sinh Nam và cộng sự đã cho thấy khi lượng ô xy trong nước tăng lên thì mật độ bọ gậy *Cx. vishnui* giảm đi ($r = - 0,66$; $P = 0,05$) và khi ruộng lúa có nhiều cây thủy sinh thì mật độ bọ gậy *Cx. vishnui* tăng lên ($r=0,74$; $P < 0,05$). Mật độ bọ gậy *Cx. tritaeniorhynchus* tăng lên khi mức nước cao vừa đủ ($r=0,69$; $P < 0,05$) và có nhiều cây thủy sinh ($r = 0,96$; $P < 0,05$) [4]. Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy số bọ gậy VNNB thu thập được phụ thuộc vào các loại thủy vực, mực nước và hiện diện của cây thủy sinh trong thủy vực đó.

Tiến hành điều tra bọ gậy muỗi véc tơ VNNB để tìm hiểu nơi đẻ và ổ của muỗi ngoài thiên nhiên, Vũ Sinh Nam và cộng sự (1985-1988) đã nhận thấy ổ bọ gậy của

muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* thường ở ruộng lúa, ruộng mạ, hoặc ở những vũng nước nhỏ có dung tích rất khác nhau từ 1 lít đến 50 lít, 60 lít nước ở ngoài đồng hoặc xung quanh nhà ở. Đôi khi còn bắt được chúng trong những dụng cụ chứa nước sinh hoạt của nhân dân vùng nông thôn, không gặp ổ bọ gậy của loài muỗi này ở các thủy vực lớn như ao, hồ, kênh, sông và cũng không gặp khi điều tra các dụng cụ chứa nước trong nội thành Hà Nội [27].

Tác giả Nguyễn Thu Yên năm 2004 điều tra 1.477 thủy vực các loại ở Gia Lương, Hà Bắc bao gồm ao hồ, mương máng, hồ nước nhỏ, nước sinh hoạt đã phát hiện có 252 thủy vực có bọ gậy của muỗi, phân bố các loại thủy vực có bọ gậy muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* cũng tương tự như kết quả điều tra của Vũ Sinh Nam và cộng sự (1985-1988), cụ thể là: Ruộng lúa nước chiếm tỷ lệ có bọ gậy *Cx. tritaeniorhynchus* cao nhất (29,4%), tiếp theo là các hồ nhỏ chứa nước trên cánh đồng (26,4%), mương máng có nước (20,3%) và dụng cụ chứa nước sinh hoạt: 10,9%. Ở điều tra này chúng tôi cũng không phát hiện được bọ gậy của muỗi truyền bệnh VNNB ở các ao hồ.

4.2.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của muỗi véc tơ

Các yếu tố thời tiết, khí hậu có tác động rất lớn đến sự sinh sản và phát triển của muỗi véc tơ VNNB. Người ta thấy ở vùng nhiệt đới thì muỗi véc tơ VNNB phát triển quanh năm, nhưng thường mạnh vào các tháng mùa hè, mưa nhiều. Đồng thời việc tưới tiêu nước cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của muỗi véc tơ VNNB. Khi không có mưa nhưng vào thời gian các ruộng lúa được tưới nước đầy đủ thì mật độ muỗi véc tơ VNNB cũng tăng cao. Ngoài ra, các yếu tố về sinh thái môi trường cũng có tác động đến sự phát sinh và phát triển của muỗi véc tơ.

Nghiên cứu về muỗi véc tơ truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại một số tỉnh, thành miền Bắc, Vũ Sinh Nam và cộng sự (1985-1988) đã kết luận: muỗi véc tơ truyền bệnh Viêm não Nhật Bản (*Cx. tritaeniorhynchus*) phát triển quanh năm, nhiều nhất từ tháng 6 đến tháng 9, có hai đỉnh cao là vào tháng 4 và tháng 8 trong năm [27].

Nghiên cứu tại Gia Lương, Hà Bắc năm 1994, tác giả Nguyễn Thu Yên cũng đưa ra nhận xét: muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* phát triển quanh năm và

tập trung chủ yếu trong chuồng gia súc. Các chỉ số muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* bắt đầu tăng cao từ tháng 3 (3,02 con/chuồng và 55,17% chuồng gia súc có muỗi), đỉnh cao nhất vào tháng 7 (8,07 con/chuồng và 56,14% chuồng có muỗi). Muỗi *Cx. vishnui* cũng phát triển tương tự như *Cx. tritaeniorhynchus*, nhưng đỉnh cao xuất hiện sớm hơn vào tháng 5 và có mật độ quần thể thấp hơn.

Từ tháng 3 đến tháng 9 là những tháng có nhiệt độ cao và mưa nhiều phù hợp với sự phát triển của muỗi véc tơ, vì vậy vào khoảng thời gian này các chỉ số muỗi véc tơ truyền bệnh VNNB tăng cao. Nghiên cứu tại Hà Nam từ tháng 4/2006 đến tháng 3/2007 cho thấy muỗi véc tơ VNNB phát triển quanh năm, nhưng tăng cao từ tháng 3 đến tháng 8 trong năm, đặc biệt các chỉ số của *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* cả ở trong nhà lẫn chuồng gia súc có hai đỉnh cao vào tháng 4 và tháng 7 trong năm. Tháng 4/2006 ở Hà Nam ít mưa, lượng mưa trung bình chỉ là 23,2 mm; tuy nhiên muỗi véc tơ vẫn phát triển mạnh nhất và có chỉ số mật độ, chỉ số nhà và chỉ số chuồng cao nhất [48]. Hiện tượng này liên quan đến việc tưới nước cho các cánh đồng lúa, tháng 4 là thời điểm lúa đang thì con gái, nên các ruộng lúa lúc nào cũng được cung cấp đầy đủ nước để lúa phát triển. Chính các ruộng lúa ngập tràn nước là điều kiện lý tưởng để muỗi véc tơ sinh sản và phát triển. Như vậy ngoài mùa mưa thì việc tưới nước cho lúa cũng liên quan mật thiết đến sự phát triển của muỗi véc tơ truyền bệnh VNNB. Kết quả nghiên cứu đã cung cấp thông tin cho các nhà quản lý, hệ thống y tế và người dân 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai về sự hiện diện của các loài muỗi, bộ gậy muỗi véc tơ VNNB, đặc biệt vào mùa cao điểm ghi nhận người bệnh, tiềm năng lây truyền VNNB tại địa phương để tuyên truyền, vận động người dân cho trẻ tiêm phòng vắc xin VNNB, và có biện pháp phòng chống muỗi tại hộ gia đình, khuyến cáo các hộ gia đình xây dựng chuồng trại gia súc, gia cầm tập trung và xa nhà ở, tưới tiêu, canh tác hợp lý, không nên cho trẻ chơi gần chuồng gia súc vào chập tối (thời điểm hoạt động hút máu của muỗi), và phòng chống muỗi đốt cho trẻ. Cần tiếp tục mở rộng nghiên cứu tương tự tại các tỉnh khác để có bức tranh tổng thể về sự lưu hành của các loài véc tơ truyền bệnh VNNB khu vực Tây Bắc.

4.3. Chi phí trực tiếp cho y tế của người bệnh Viêm não vi rút tại các cơ sở y tế ở 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

Trong tổng số 456 đối tượng nghiên cứu, nhóm trẻ em dưới 15 tuổi có tỷ lệ mắc cao nhất (50,5 %), tiếp đến là nhóm 15-45 tuổi (39,2 %), nhóm người bệnh trên 45 tuổi chiếm tỷ lệ thấp nhất (10,5%). Như vậy VNVR tập trung chủ yếu nhóm trẻ em và nhóm người trẻ trong độ tuổi lao động. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Dương Thị Hiền tại Bắc Giang [20], Phạm Thị Cẩm Hà ở Sơn La [16], và tại bệnh viện Nhi Trung ương [23].

Sau khi đã loại trừ các ca VNVR tử vong, đa số người bệnh khỏi bệnh hoàn toàn (90,1%, tương đồng giữa các tỉnh). Tuy nhiên có 9,9% người bệnh để lại di chứng. Kết quả này tương tự nghiên cứu tại Sơn La năm 2015 cho tỷ lệ người bệnh có di chứng thần kinh ở các mức độ là 11% [16]. Nghiên cứu của Trần Thị Thu Hương với 43,8 % người bệnh viêm não cấp hồi phục tốt, 19,9% người bệnh ra viện trong tình trạng di chứng nhẹ, 25,9% người bệnh di chứng nặng [23].

Kết quả điều trị người bệnh Viêm não vi rút phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố như độ tuổi, bệnh nền, năng lực chẩn đoán và điều trị bệnh của các cơ sở y tế và căn nguyên gây bệnh. Tác giả Rautonen [84] và Kennedy [85] đã tìm ra yếu tố tiên lượng xấu ở những người bệnh <3 tuổi và <1 tuổi, nguy cơ tử vong và bệnh nặng ở trẻ em dưới một tuổi cũng lớn gấp 5 lần so với trẻ lớn. Một số nghiên cứu đã chỉ ra viêm não cấp do vi rút Saint Louis có thể gây tử vong cho 30% ca. VNNB có thể gây tử vong từ 0,3% đến 60% số người bị nhiễm bệnh, thường là trong tuần đầu tiên của bệnh. Viêm não cấp do nhiễm sởi cấp tính ở người không có miễn dịch có tỷ lệ tử vong 10-15% và tỷ lệ di chứng thần kinh khoảng 25% ca [60].

4.3.1 Chi phí trực tiếp cho y tế của người bệnh Viêm não vi rút

Kết quả phân tích chi phí điều trị trực tiếp cho y tế của 456 người bệnh VNVR cho thấy chi phí trung bình cho mỗi người là 8.010.875 đồng. Gánh nặng chi phí trực tiếp cho y tế của mỗi ca điều trị tương đương 2,7 lần thu nhập đầu người bình quân/tháng ở khu vực nông thôn năm 2018 (2.990.000 đồng); 3,3 lần thu nhập đầu người bình quân/tháng ở khu vực Trung du và miền núi phía Bắc trong cùng năm

(2.455.000 đồng) và dao động từ 3,4 đến 5,4 lần thu nhập đầu người bình quân/tháng ở các tỉnh Lào Cai (2.324.000 đồng), Điện Biên (1.477,000 đồng), Lai Châu (1.493.000 đồng). So với định mức chi tiêu ăn, uống, gánh nặng chi phí trực tiếp cho y tế của người bệnh VNVR tương đương 8,6 lần ở khu vực nông thôn (933.000 đồng) và 9,4 lần ở khu vực Trung du và miền núi phía Bắc [101]. Trong một nghiên cứu tại Mỹ năm 2016, chi phí trung bình điều trị cho người bệnh cấp tính là 64.604 USD và 260.012 USD cho người bệnh nằm điều trị ở khoa điều trị tích cực nhi [89]. So với nghiên cứu tại Mỹ thì chi phí điều trị (chi phí trực tiếp dành cho y tế) cho người bệnh VNVR tại các tỉnh Tây Bắc thấp hơn rất nhiều lần. Mặc dù so sánh chi phí như vậy là rất khập khiễng, do thu nhập bình quân của người dân Mỹ (63.544 USD/người) cao hơn rất nhiều so với Việt Nam (3.500 USD/người), nhưng rõ ràng chi phí cho điều trị VNVR ở nước có nền kinh tế phát triển như Mỹ hoặc ở nước có nền kinh tế đang phát triển như Việt Nam thì đều rất cao so với thu nhập bình quân đầu người. So sánh chi phí điều trị VNVR với thu nhập bình quân/đầu người, chi phí trực tiếp cho y tế trong nghiên cứu này cao gấp 3,4 đến 5,4 lần thu nhập đầu người bình quân/tháng ở miền núi Việt Nam, và thấp hơn so với nghiên cứu của Griffiths và cộng sự năm 2013 phân tích các ca bệnh trẻ em viêm não cấp/VNNB nhập viện ở hai bệnh viện lớn ở Nepal. Ở Nepal, chi phí phát sinh của các gia đình có trẻ em điều trị viêm não cấp/VNNB ở mức độ nặng/trung bình, bao gồm chi phí điều trị, thuốc và số tiền thu nhập mất đi khi chăm sóc người nhà nằm viện, là 1.151 USD (tương đương 10 lần thu nhập trung bình hàng tháng của hộ gia đình) và đối với các ca bệnh nhẹ/ít biến chứng là 524 USD (tương đương 4,6 lần thu nhập của gia đình người bệnh) [92].

Mặc dù vậy, 3 tỉnh tham gia nghiên cứu là những tỉnh miền núi, số người nghèo và cận nghèo cao. Đây cũng là những tỉnh thuộc danh sách trợ cấp của nhà nước. Tỷ lệ người dân có thẻ bảo hiểm y tế cao (chủ yếu thẻ cho người nghèo). Do đó, trong tổng chi phí trực tiếp chi trả cho điều trị bệnh, người bệnh chỉ phải đồng chi trả 414.299 đồng, tương đương với 5,2%, số tiền chi phí trực tiếp cho y tế. 94,8% chi phí này (tương ứng với 7.376.239 đồng) được nhà nước hỗ trợ thông qua thẻ bảo hiểm y tế. Tiền chi trả từ túi người bệnh (414.299 đồng), thực chất là số tiền do người

bệnh tự mua ngoài danh mục đã được xác định của cơ sở điều trị. Chi phí được miễn trừ khá lớn thể hiện sự quan tâm của nhà nước đối với người dân trong khám chữa bệnh, giúp người bệnh giảm gánh nặng chi phí cho điều trị bệnh cho người dân ở miền núi.

4.3.2 Các yếu tố ảnh hưởng đến chi phí điều trị trực tiếp cho y tế của người bệnh Viêm não vi rút

Tỷ lệ phân bố ca bệnh cao nhất ở nhóm tuổi dưới 15 và giảm dần, thấp nhất ở nhóm > 45 tuổi. Tuy nhiên chi phí điều trị trực tiếp cho y tế lại ngược lại. Kết quả phân tích cho thấy nhóm người bệnh trên 45 tuổi có mức chi phí điều trị trung bình cao nhất (7.733.876 đồng), tiếp đến là nhóm < 5 tuổi (5.992.298 đồng), nhóm 15-45 tuổi (5.912.022 đồng) và thấp nhất là nhóm 5-15 tuổi (4.636.132 đồng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $P < 0,001$. Có thể giải thích sự khác biệt này là do độ tuổi càng cao thì hệ miễn dịch của cơ thể càng giảm và nguy cơ mắc các bệnh đi kèm cao hơn do vậy khi mắc bệnh sẽ mất nhiều thời gian điều trị hơn, chi phí điều trị do vậy cũng sẽ cao hơn so với người bệnh ở độ tuổi còn trẻ.

Người bệnh càng điều trị dài ngày thì chi phí trực tiếp điều trị càng gia tăng. Cụ thể người bệnh điều trị trên 14 ngày thì chi phí này lên tới 11.764.325 đồng, cao hơn gần gấp đôi so với nhóm điều trị từ 7-14 ngày (6.166.919 đồng) và gần gấp ba so với nhóm điều trị dưới 7 ngày (4.438.378 đồng). Điều trị dài ngày đồng nghĩa với việc gia tăng các khoản phí như giường bệnh, thuốc, xét nghiệm, ..., chưa kể đến các chi phí gián tiếp. Điều đó cho thấy việc phát hiện, chẩn đoán và điều trị bệnh kịp thời sẽ giúp giảm thời gian điều trị bệnh, từ đó giảm chi phí, đồng thời cũng giúp hạn chế tối đa các di chứng sau này.

Trong số các tác nhân gây nên VNVR, vi rút VNNB gây ra bệnh cảnh lâm sàng nặng nề nhất. Do đó, chi phí điều trị cho người bệnh VNNB cao nhất so với các tác nhân khác. Tuy nhiên, với cỡ mẫu hạn chế, nghiên cứu này cũng chưa tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa chi phí trực tiếp cho y tế đối với các tác nhân gây VNVR.

KẾT LUẬN

1. Thực trạng của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

Năm 2017 - 2018, tại 3 tỉnh khu vực Tây Bắc gồm Sơn La, Điện Biên và Lào Cai ghi nhận số lượng lớn ca VNVR với 473 ca mắc, trong đó có 17 ca tử vong. Ca bệnh xảy ra trên diện rộng, ghi nhận tại 28/31 huyện/thị xã/thành phố của 3 tỉnh. Số mắc và tử vong tại Sơn La là cao nhất trong khu vực (315 ca mắc, 66,6%), tiếp theo là Điện Biên (90 ca mắc, 19%) và Lào Cai (68 ca mắc, 14,4%). Ca bệnh xuất hiện rải rác từ những tháng đầu năm, tăng dần và đạt đỉnh điểm vào các tháng mùa hè - tháng 6 - 7, thoái lui và xuất hiện lẻ tẻ vào những tháng cuối năm. Đa số ca mắc là trẻ dưới 15 tuổi (51,8%), tuy nhiên cũng ghi nhận tỷ lệ không nhỏ các ca mắc ở nhóm 15 - 29 tuổi (24,3%). Số nam mắc bệnh chiếm tỷ lệ 55% (260 ca) cao hơn không đáng kể so với nữ (213 ca, 45%). Các ca tử vong chủ yếu là trẻ dưới 15 tuổi (94,1%); 23% số ca tử vong dương tính với VNNB.

2. Một số tác nhân vi rút gây viêm não và sự có mặt của muỗi truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

Đã phát hiện 28,5% số mẫu dương tính với tác nhân vi rút ở người bệnh VNVR lâm sàng ở Tây Bắc. Các tác nhân vi rút phổ biến gây viêm não khá đa dạng, bao gồm vi rút VNNB, VRĐR, vi rút HSV, vi rút Dengue, và vi rút hCMV. Vi rút VNNB và VRĐR là 2 tác nhân phổ biến nhất gây Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc năm 2017-2018, với tỷ lệ dương tính lần lượt là 68,9% và 19,3%, bên cạnh đó ghi nhận 8,9% số mẫu dương tính đồng nhiễm 2 loại vi rút VNNB và VRĐR. Vi rút VNNB cũng là tác nhân phổ biến nhất (91,9%) trong số các tác nhân được phát hiện trong dịch não tủy. Các tác nhân vi rút khác chiếm tỷ lệ thấp bao gồm vi rút HSV, vi rút Dengue và vi rút hCMV. Đối với tác nhân VRĐR, đã phát hiện 13 serotype trong đó nổi trội nhất là CV-A6 (11,8%) tiếp theo là E-6 và EV-A71 (cùng chiếm 8,8%) và CV-A24, CV-B5 (cùng chiếm 5,9%). Hầu hết các ca dương tính với VNNB chưa được tiêm vắc xin phòng VNNB hoặc tiêm phòng không đầy đủ (97,1%).

Tại 3 tỉnh Tây Bắc - Sơn La, Điện Biên và Lào Cai - đã thu thập được 8 loài muỗi thuộc 5 giống, trong đó có hai loài muỗi là véc tơ chính truyền bệnh Viêm não Nhật Bản *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. Vishnui*, với số lượng chiếm ưu thế (68,48%). Số lượng muỗi thu thập được cao nhất là tại Điện Biên, tiếp theo là Lào Cai và thấp nhất là Sơn La. Chỉ số mật độ muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* cao tại chuồng gia súc (3,36 – 21,28 con/chuồng đối với *Cx. tritaeniorhynchus*, 0,12 – 7,74 con/chuồng đối với *Cx. vishnui*), cao hơn 19,5 lần (*Cx. tritaeniorhynchus*) và 11,8 lần (*Cx. vishnui*) so với chỉ số mật độ muỗi trong nhà ở. Ghi nhận sự có mặt của bọ gây muỗi truyền bệnh VNNB trong các thủy vực: ruộng lúa nước, nương dẫn nước, vũng nước nhỏ và DCCN gia đình, trong đó ruộng lúa nước là nơi tập trung chủ yếu của bọ gây muỗi VNNB (81,8% bọ gây *Cx. tritaeniorhynchus* và 98% bọ gây *Cx. vishnui*).

3. Chi phí điều trị trực tiếp liên quan đến y tế của người bệnh VNVR điều trị tại các cơ sở y tế ở 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018

Chi phí điều trị trực tiếp liên quan đến y tế trung bình của mỗi người mắc VNVR tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, giai đoạn 2017-2019 tương đối cao (8.010.875 đồng), chi phí ở trung vị là 5.844.793 đồng. Trong đó người bệnh phải tự chi trả 414.299 đồng, tương đương 5,2% tổng chi phí điều trị, phần còn lại do nhà nước chi trả qua bảo hiểm y tế. Chi phí ở trung vị là 5.844.793 đồng. Hai hạng mục y tế chiếm tỷ trọng lớn trong chi phí điều trị của người bệnh bao gồm thuốc, máu, dịch truyền chiếm cao nhất (3.358.140 đồng, 41,9%) và giường bệnh (2.349.215 đồng, 29,3%). Chi phí điều trị trực tiếp cho y tế có mối liên quan với nhóm tuổi của người bệnh và số ngày điều trị bệnh. Theo đó người bệnh tuổi càng cao và số ngày điều trị càng nhiều thì chi phí trực tiếp cho điều trị càng nhiều.

KIẾN NGHỊ

1. Đẩy mạnh việc tiêm vắc xin VNNB cho cả trẻ em và người lớn trong Chương trình tiêm chủng mở rộng cũng như ngoài Chương trình tiêm chủng mở rộng.
2. Cần tiếp tục và mở rộng những nghiên cứu về dịch tễ học (nguồn truyền nhiễm của bệnh, yếu tố nguy cơ, ...), nghiên cứu tác nhân vi rút mới gây VNVR và gánh nặng bệnh tật liên quan tới VNVR để có bức tranh tổng thể và toàn diện hơn.
3. Nghiên cứu thí điểm các biện pháp làm giảm nguồn véc tơ truyền bệnh như thâm canh, tưới tiêu phù hợp, vận động cộng đồng xây dựng chuồng trại gia súc, gia cầm tập trung, xa nhà ở, giảm tiếp xúc người- véc tơ- vật chủ.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

1. Vũ Vi Quốc, Vũ Trọng Dục, Trần Vũ Phong, Hoàng Minh Đức, Vũ Sinh Nam, Nguyễn Thị Yên, Trần Hải Sơn, Trần Công Tú, Trần Chí Cường, Nguyễn Tiến Dũng, Đoàn Ngọc Hùng, Nguyễn Văn Sửu, Trần Như Dương (2018), “Véc tơ truyền bệnh Viêm não Nhật Bản tại một số điểm thuộc khu vực Tây Bắc, 2018”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 28, số 7, tr. 96-103.
2. Vũ Vi Quốc, Ngũ Duy Nghĩa, Ngô Huy Tú, Trần Ngọc Thanh, Phạm Thị Cẩm Hà, Nguyễn Thị Thường, Lê Thị Hiền Thu, Trần Thị Nguyễn Hòa, Vũ Sinh Nam, Đặng Đức Anh, Trần Như Dương (2019), “Một số tác nhân phổ biến gây Viêm não vi rút tại 3 tỉnh khu vực Tây Bắc, 2017-2018”, *Tạp chí Y học dự phòng*, Tập 29, số 12, tr. 57-62.
3. Vũ Vi Quốc, Phạm Thị Cẩm Hà, Ngũ Duy Nghĩa, Ngô Huy Tú, Lưu Nguyên Thắng, Trần Anh Tú, Trần Ngọc Thanh, Nguyễn Công Khanh, Vũ Sinh Nam, Nguyễn Tiến Dũng, Đoàn Ngọc Hùng, Nguyễn Văn Sửu, Trần Như Dương (2020), “Đặc điểm dịch tễ học của Viêm não vi rút tại một số tỉnh Tây Bắc năm 2017-2018”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 30, số 1, tr. 64-73.
4. Vũ Vi Quốc, Nguyễn Thị Thi Thơ, Ngô Huy Tú, Ngũ Duy Nghĩa, Trần Ngọc Thanh, Phạm Thị Cẩm Hà, Nguyễn Tiến Dũng, Đoàn Ngọc Hùng, Nguyễn Văn Sửu, Hoàng Minh Đức, Nguyễn Hồng Sơn, Vũ Sinh Nam, Trần Như Dương (2020), “Chi phí điều trị trực tiếp liên quan đến y tế của người bệnh Viêm não vi rút tại cơ sở y tế 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2019”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 30, số 6, tr.42-52.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TIẾNG VIỆT

1. Phạm Nhật An (2016), *Bệnh viêm não trẻ em*, Nhà xuất bản Y học.
2. Bộ Y tế (2018), *Niên giám thống kê Bệnh truyền nhiễm 1995-2017 - Bệnh viêm não Vi rút.*: 277. Tr.
3. Bộ Y tế (2006), *Hướng dẫn chẩn đoán và xử trí bệnh viêm não cấp do virus ở trẻ em*, Quyết định số 2322/QĐ-BYT ngày 30 tháng 6 năm 2006, tr.1-8.
4. Bộ Y tế (2017) *Niên giám thống kê bệnh truyền nhiễm 1999 – 2016 – Bệnh viêm não vi rút*, Nhà xuất bản Y học: 949 tr.
5. Nguyễn Thị Kim Chúc (2007), *Kinh tế Y tế và Bảo hiểm Y tế*, Nhà xuất bản Y học, tr. 3-50.
6. Nguyễn Thị Kim Chúc (2003), *Đánh giá kinh tế - Kinh tế Y tế và Bảo hiểm Y tế*, Nhà xuất bản Y học.
7. Cục Y tế dự phòng và Môi trường- Bộ Y tế (2009), *Cẩm nang phòng chống bệnh truyền nhiễm*, Nhà xuất bản Y học, tr. 1-8.
8. Cục Y tế dự phòng- Bộ Y tế (2018), *Niên giám thống kê bệnh truyền nhiễm năm 2017*, Nhà xuất bản Y học: 271 tr.
9. Cục Y tế dự phòng- Bộ Y tế (2017), *Niên giám thống kê bệnh truyền nhiễm 2016*, Nhà xuất bản Y học, 400 tr.,
10. Nguyễn Tiến Dũng, Đặng Thị Ánh Duyên, Nguyễn Thị San, Nguyễn Thị Thuỳ Dung, Nguyễn Thu Yên, Trần Thị Lan Anh, Phạm Văn Khang, Nguyễn Thị Thu Hương, Lê Kiều Oanh, Nguyễn Thị Thu Thủy, Trần Mạnh Tùng, Trần Như Dương, Phạm Quang Thái (2015), “Một số đặc điểm dịch Viêm não Nhật Bản tại Sơn La năm 2014”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập XXV, số 8(168), tr. 179-185.
11. Hoàng Minh Đức, Trần Văn Ban, Đỗ Thiện Hải và các cộng sự (2012), "Một số đặc điểm lâm sàng, dịch tễ hội chứng não cấp do vi rút Banna ở Việt Nam", *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 22, số 8 (135), tr. 198-207.
12. Phạm Thị Cẩm Hà, Ngũ Duy Nghĩa, Nguyễn Thu Thủy, Nguyễn Thị Hiền Thanh, Nguyễn Thị Thường, Nguyễn Tiến Dũng, Trần Như Dương (2016),

- “Một số đặc điểm dịch tễ học và căn nguyên của viêm não vi rút tại Sơn La năm 2015”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 26, số 10 (183), tr. 65-73.
13. Trần Như Dương, Dương Thị Hồng, Phan Thị Ngà (2016), *Vi rút viêm não Nhật Bản, giám sát và các kỹ thuật xét nghiệm*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
 14. Bùi Đại, Nguyễn Văn Mùi, Nguyễn Hoàng Tuấn, Phan Xuân Phương, Từ Văn Thơ (2002), *Bệnh học truyền nhiễm*, NXB Y học, 432 tr.,
 15. Đỗ Quang Hà, Đoàn Xuân Mượu (1965), “Phân lập và định loại vi rút viêm não Nhật Bản ở Việt Nam”, *Công trình nghiên cứu khoa học Viện Vệ sinh dịch tễ học 1960 - 1965*, tr. 17–23.
 16. Phạm Thị Cẩm Hà, Ngũ Duy Nghĩa, Nguyễn Thu Thủy, Nguyễn Thị Hiền Thanh, Nguyễn Thị Thường, Nguyễn Tiến Dũng, Trần Như Dương (2016), “Một số đặc điểm dịch tễ học và căn nguyên của viêm não vi rút tại Sơn La năm 2015”, *Tạp chí Y học dự phòng*, Tập XXVI, số 10 (183), tr. 65-73.
 17. Hoàng Đức Hạnh, Nguyễn Nhật Cẩm, Ngô Khánh Hoàng, Nguyễn Thị Bích Ngọc, Trần Ngọc Hà (2015), “Một số đặc điểm dịch tễ học bệnh Viêm não Nhật Bản tại Hà Nội năm 2014”, *Tạp chí Y học dự phòng*, XXV(9(169)), tr. 24-30.
 18. Dương Thị Hiền, Đặng Thanh Minh, Bùi Minh Trang, Nguyễn Thành Luân, Phan Thị Ngà (2016), “Một số đặc điểm dịch tễ học bệnh Viêm não Nhật Bản và hiệu quả phòng bệnh bằng vắc xin tại ở Bắc Giang, 2006-2015”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập XXVI, số 10 (183): 50-59.
 19. Dương Thị Hiền, Đỗ Phương Loan, Bùi Minh Trang, Phạm Hồng Quỳnh Anh, Phan Thị Ngà (2019), “Một số đặc điểm dịch tễ và phân tử vi rút đường ruột gây hội chứng não cấp tại tỉnh Bắc Giang, 2004-2017”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 29(3), tr. 9-17.
 20. Dương Thị Hiền, Đặng Thanh Minh, Đỗ Phương Loan, Bùi Minh Trang, Nguyễn Thành Luân, Phan Thị Ngà, Viên Quang Mai, (2018), “Xác định một số căn nguyên vi rút arbo, vi rút đường ruột và vi rút Herpes gây hội chứng viêm não cấp tại Bắc Giang, 2004-2017”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 28(6),

tr.50.

21. Dương Thị Hiền (2020), *Một số căn nguyên vi rút gây hội chứng não cấp tại tỉnh Bắc Giang, 2004-2017*, Luận án Tiến sĩ Y học, Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương, tr. 1-134.
22. Nguyễn Thị Thu Hương, Trần Mạnh Tùng, Nguyễn Thị Thu Yến, Phạm Văn Khang, Phạm Quang Thái, Trần Thị Lan Anh, Lê Kiều Oanh, Phan Lê Thanh Hương, Trần Như Dương (2015), “Đặc điểm dịch tễ học, lâm sàng viêm não - màng não tại Bệnh viện Nhi Trung ương năm 2011- 2014”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập XXV, số 8 (168), tr. 186.
23. Trần Thị Thu Hương (2019), *Nghiên cứu căn nguyên, đặc điểm dịch tễ học lâm sàng, cận lâm sàng và yếu tố tiên lượng bệnh viêm não cấp ở trẻ em Việt Nam*, Trường Đại học Y Hà Nội, 139 tr.,
24. Đỗ Phương Loan, Bùi Minh Trang và Phan Thị Ngà (2012), "Phân lập định loại vi rút arbo trên muỗi ở tỉnh Bắc Giang, 2006-2012", *Tạp chí y học dự phòng*, Tập 22 số 8 (135), tr. 261-268.
25. Huỳnh Kim Mai, Nguyễn Bảo Triệu, Vũ Thị Ngọc, Lê Thị Kim Trang, Nguyễn Đức Duy, Diệp Thùy Dung, Viên Quang Mai (2018), “Xác định một số tác nhân vi rút chính gây viêm não cấp tại khu vực miền trung năm 2015-2017”, *Tạp chí Y học dự phòng*, Tập 28, số 7, tr. 88-95.
26. Hoàng Văn Minh, Nguyễn Tuấn Anh (2007), “Nghiên cứu chi phí điều trị một số bệnh thường gặp tại bệnh viện huyện Ba Vì, Hà Tây năm 2005”, *Tạp chí Y học thực hành*, số 585, tr. 11–14.
27. Vũ Sinh Nam, Hoàng Kim, Nguyễn Thị Yên, Nguyễn Tú Bình, Nguyễn Thị Liên (1990), “Muỗi *Culex tritaeniorhynchus* (Véc tơ chính truyền bệnh Viêm não Nhật bản) ở một số tỉnh thành miền Bắc Việt Nam”, *Kỷ yếu công trình Viện Vệ sinh dịch tễ học*, tr. 77–85.
28. Phan Thị Ngà (2004), *Vi rút viêm não Nhật Bản và các kỹ thuật chẩn đoán*, Nhà xuất bản Y học.
29. Phan Thị Ngà, Vũ Sinh Nam và Masahiro Takagi (2004), "Nghiên cứu sự tồn

- tại của vi rút viêm não Nhật Bản trong tự nhiên", *Tạp chí Y học dự phòng*, Tập 14, số 1 (64), tr. 21-26.
30. Phan Thị Ngà, Đỗ Phương Loan, Nguyễn Việt Hoàng, Bùi Minh Trang, Lê Thị Hiền Thu, Tống Thị Hà và cộng sự (2008), “Nghiên cứu dịch tễ học phân tử vi rút viêm não Nhật Bản và xác định vai trò gây bệnh của vi rút viêm não Nhật Bản genotyp 1”, *Tạp chí Y học dự phòng*, Tập 18 số 3 (95), tr. 5-10.
 31. Phan Thị Ngà, Đỗ Phương Loan, Nguyễn Hải Tuấn, Bùi Minh Trang, Nguyễn Việt Hoàng, Đặng Thị Thu Hằng, Đặng Thị Trang, Nguyễn Văn Thơm, Lâm Văn Tuấn, Dương Thị Hiền, Đặng Thanh Minh, Nguyễn Trần Hiền (2013), "Tác động của vắc xin phòng Viêm não Nhật Bản đến đặc điểm dịch tễ huyết thanh học của Viêm não Nhật Bản ở Việt Nam", *Tạp chí Y học dự phòng*, Tập 23 số 11 (147), tr.63–70.
 32. Phan Thị Ngà, Bùi Minh Trang, Đặng Thu Thảo, Nguyễn Thành Luân, Hoàng Minh Đức, Đỗ Phương Loan, Futoshi Hasebe, Kouichi Morita (2013), “Đặc điểm dịch tễ huyết thanh học của hội chứng não cấp do virus Banna ở Việt Nam, 2002 – 2012”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập XXIII số 1 (136), tr.12.
 33. Lê Hồng Phong, Trần Văn Tiến, Hoàng Thùy Nguyên, Phan Thị Ngà và Vũ Sinh Nam (1996), "Bệnh Viêm não Nhật Bản ở miền Bắc Việt Nam 1988-1992", *Vệ sinh Phòng dịch*, 6 (2), tr.11-15.
 34. Học viện Quân y (2008), “Chi phí và phân tích chi phí trong CSSK”, *Bài giảng kinh tế y tế, Tài liệu đào tạo cao học - NCS chuyên ngành Tổ chức y tế - Y tế công cộng*, tr. 11-14.,
 35. Nguyễn Thị Hiền Thanh (2003), "Bước đầu tìm hiểu căn nguyên gây viêm màng não ở trẻ em do một số vi rút đường ruột", *Tạp chí Y học dự phòng*, Tập 8 số 4 (6), tr.5-12.
 36. Đặng Đình Thoảng, Nguyễn Ngọc Tâm, Bùi Minh Trang, Nguyễn Thị Yên, Phan Thị Ngà (2008), “Nghiên cứu sự biến động và xác định véc tơ truyền virut viêm não Nhật Bản tại tỉnh Hà Nam, 2006 – 2007”, *Tạp chí Y học dự phòng*, XVIII(3 (95)), tr.45–52.

37. Vũ Đình Thiêm, Đỗ Thị Thu Huyền, Ngô Văn Toàn (2019), “Một số đặc điểm dịch tễ học của viêm não vi rút ở trẻ em dưới 15 tuổi tại tỉnh Bắc Giang giai đoạn 2008-2016”, *Tạp chí Y học dự phòng*, Tập 29, số 3, tr. 9-17.
38. Phan Thị Quỳnh Trâm, Hồ Vĩnh Thắng, Phạm Duy Quang, Phan Trọng Lâm và cộng sự (2015), “Đặc điểm dịch tễ và lâm sàng ở trẻ mắc Viêm não Nhật Bản tại khu vực phía Nam”, *Tạp chí Y học dự phòng*, XXV(5(165)), tr.320.
39. Phạm Khánh Tùng (2020), *Thực trạng Viêm não Nhật Bản, một số đặc điểm của véc tơ và tác nhân gây bệnh tại khu vực Tây Nguyên, 2005-2018*, Luận án Tiến sĩ Y tế công cộng, Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương, tr. 3-139.
40. Nguyễn Thu Yến, Trần Văn Tiến, Huỳnh Phương Liên và các cộng sự (2000), "Hiệu quả phòng bệnh VNNB ở huyện Gia Lương, Bắc Ninh sau 5 năm gây miễn dịch bằng vắc xin VNNB do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương sản xuất", *Tuyển tập công trình 1997 - 2000 Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 63-66.
41. Trường Đại học Y Hà Nội (2012), *Phân tích chi phí - Đánh giá kinh tế - Kinh tế y tế cho bác sĩ Y học Dự phòng*, Nhà xuất bản Y học.

TIẾNG NƯỚC NGOÀI

42. Ai J., Xie Z., Liu G., Chen Z., Yong Y., Li Y., Chen J., Zheng G. and Shen K., (2017), “Etiology and prognosis of acute viral encephalitis and meningitis in Chinese children: a multicentre prospective study”, *BMC Infectious Diseases*, pp. 17-494.
43. Anders H., Paul B. and Birgit S. (2007), "Herpes Simplex Encephalitis in Sweden, 1990–2001: Incidence, Morbidity, and Mortality", *Clin Infect Dis*, 45 (7), pp. 875-80.
44. Arai S., Matsunaga Y., Takasaki T. (2008), “Japanese encephalitis: surveillance and elimination effort in Japan from 1982 to 2004”, *Jpn J Infect Dis*, 61(5), pp. 3338.
45. Attoui H., Billoir F., Biagini P. et al. (2000), "Complete sequence determination and genetic analysis of Banna virus and Kadipiro virus: prosal for assignment

- to a new genus (seadornavirus) within the family Reoviridae", *J. Gen Virol*, 81, pp.1507-1515.
46. Bagdure D., Custer J.W., Rao S. và cộng sự. (2016). Hospitalized Children With Encephalitis in the United States: A Pediatric Health Information System Database Study. *Pediatr Neurol*, 61, pp. 58–62.
 47. Bradley S.H. (2010), "Arboviral Encephalitides: Transmission, Emergence, and Pathogenesis", *J. Neuroimmune Pharmacol*, 5(3), pp. 428–442.
 48. Bradshaw M.J., Venkatesan A.(2016), "Herpes Simplex Virus-1 Encephalitis in Adults: Pathophysiology, Diagnosis, and Management", *Neurotherapeutics*,13(3), pp. 493-508.
 49. Brunel D., Leveque N., Jacques J. et al. (2008), "Clinical and virological features of an aseptic meningitis outbreak in North-Eastern France, 2005", *J. Clin Virol*, 42, pp. 225-228.
 50. Campbell G.L., Hills S.L., Fischer M. et al., (2011), "Estimated global incidence of Japanese encephalitis: A systematic review", *Bulletin of the World Health Organization*, 89(10), pp. 766-774.
 51. Chen B.S., Lee H.C., Lee K.M. et al. (2020). Enterovirus and Encephalitis. *Frontiers in Microbiology*, pp. 261-273.
 52. Chen Y.Y., Fan Y.C., Tu W.C. et al. (2011), "Japanese encephalitis virus genotype replacement, Taiwan, 2009-2010", *Emerging Infectious Disease Journal*, 17(12), pp. 2354-2356.
 53. Creese, Andrew E. và Parker, David E. (1994), *Cost Analysis in Primary Health Care. A Training Manual for Programme Managers*, World Health Organization, Geneva (Switzerland).; United Nations Children's Fund, New York, NY.; Aga Khan Foundation, London (England), 147 pps.
 54. Do P.L, Bui M.T., Hasebe F., Morita K., Phan T.N. (2015), "Molecular epidemiology of Japanese encephalitis in northern Vietnam, 1964-2011: Genotype replacement", *Virology Journal*, DOI 10.1186/s12985-015-0278-4.
 55. Drummond M.E., Sculpher M.J., và Al G.W.T.G. et (2005), *Methods for the*

- economic evaluation of health care programmes, 3rd ed, Oxford University Press, 437pp.
56. Elizabeth T., Rogawski M. K., Syed S.A., Sanjay C., Tapan N. D., Shaikh S. H, and Sampath K.K. (2013), "Acute Encephalitis Syndrome Surveillance, Kushinagar District, Uttar Pradesh, India, 2011–2012", *Emerging Infectious Disease Journal*, 9(9), pp. 1361-1367.
 57. Field N.B., et al (2007), *Fields Virology*, Fifth Edition Volume I&II: 795-839, 1101-113, 1853-1909, pp. 2479-2609, 2701-2778.
 58. Fowlkes A.L., Honarmand S., Glaser C., Yagi S., Schnurr D. et al. (2008), "Enterovirus-associated encephalitis in the California encephalitis project, 1998-2005", *J Infect Dis* 198, pp. 1685-1691.
 59. Fulmali P.V., Sapkal G.N., Athawale S., Gore M.M., Mishra A.C., Bondre V.P. (2011), "Introduction of Japanese encephalitis virus genotype I, India", *Emerging Infectious Diseases Journal*, 17(2), pp. 319-321.
 60. George B.P., Schneider E.B., và Venkatesan A. (2014). Encephalitis Hospitalization Rates and Inpatient Mortality in the United States, 2000-2010. *PLoS One*, 9(9).
 61. Gogoi A., Panyang R., Baro L. và cộng sự. (2016). Acute encephalitis syndrome in children with special reference to Japanese encephalitis: A retrospective analysis. *J Evol Med Dent Sci*, pp. 3389-3394.
 62. Grant L Campbell, Susan L Hills, Marc Fischer, Julie A Jacobson, Charles H Hoke, Joachim M Hombach, Anthony A Marfin, Tom Solomon, Theodore F Tsai V.D.T.& A.S.G. (2011). Estimated global incidence of Japanese encephalitis: a systematic review. *Bull World Health Organ*, 89(Number 10), pp. 766-774E.
 63. Griffiths M.J., Lemon J.V., Rayamajhi A., Poudel P., Shrestha P., Srivastav V., Kneen R., Medina-Lara A. S.R.R.& S.T. (2013). The functional, social and economic impact of acute encephalitis syndrome in Nepal – a longitudinal follow-up study. *PLoS Negl Trop Dis*, 7(9), e2383.

64. Gurav Y.K., Bondre V.P., Tandale B. V. và cộng sự. (2016). A large outbreak of Japanese encephalitis predominantly among adults in northern region of West Bengal, India. *J Med Virol*, pp. 2004-2011.
65. Hanna J.N., Ritchie S.A., Phillips D.A., Shield J., Bailey M.C., Mackenzie J.S., Poidinger M., McCall B.J., Mills P.J.(1996), “An outbreak of Japanese encephalitis in the Torres Strait, Australia”, *The Medical Journal of Australia*, 165(5), pp. 256-260.
66. Hasbun R., Rosenthal N., Balada-Llasat J.M., Chung J., Duff S., Bozzette S., Zimmer L., Ginocchio C.(2017), “Epidemiology of meningitis and encephalitis in the United States from 2011-2014”, *Clin Infect Dis*, 65(3), pp. 359-363.
67. Heffelfinger J.D., Li X., Batmunkh N. và cộng sự. (2017). Japanese Encephalitis Surveillance and Immunization — Asia and Western Pacific Regions, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2017 Jun 9; 66(22), pp. 579-583.
68. Hills S.L., Walter E.B., Atmar R.L. và cộng sự. (2019). Japanese encephalitis vaccine: Recommendations of the advisory committee on immunization practices. *MMWR Recomm Reports*, pp. 1-33.
69. Holman R.C., Khetsuriani N., Anderson L.J. (2002), "Burden of encephalitis-associated hospitalizations in the United States, 1988-1997", *Clin Infect Dis*, 35, pp. 175-182.
70. Hsu L.C., Chen Y.J., Hsu F.K. et al (2014), “The Incidence of Japanese Encephalitis in Taiwan-A Population-Base Study”, *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 8 (7): e3030.
71. Islam M.S., Sharif A.R., Hossain M.S., Sazzad, AKM, Dawlat Khan D., Hasan M., Akter S., Rahman M., Luby S.P., Heffelfinger J.D., and Gurley E.S. (2017), “Outbreak of Sudden Death with Acute Encephalitis Syndrome Among Children Associated with Exposure to Lychee Orchards in Northern Bangladesh, 2012”, *Am J Trop Med Hyg*, 97(3), pp. 949–957.

72. Jain P., Jain A., Kumar A. et al. (2014), "Epidemiology and etiology of acute encephalitis syndrome in North India", *Japanese Journal Infect Dis.*, 67(3): 197-203.
73. Jain P, Prakash S., Tripathi P.K., Chauhan A., Gupta S., Sharma U., Jaiswal A.K., Sharma D., Jain A. (2018), "Emergence of *Orientia tsutsugamushi* as an important cause of Acute Encephalitis Syndrome in India", *PLoS Negl Trop Dis*, 12(3): e0006346.
73. Jain P, Prakash S., Tripathi P.K., Chauhan A., Gupta S., Sharma U., Jaiswal A.K., Sharma D., Jain A. (2018), "Emergence of *Orientia tsutsugamushi* as an important cause of Acute Encephalitis Syndrome in India", *PLoS Negl Trop Dis*, 12(3): e0006346.
74. Jain S., Patel B. and Bhatt G.C. (2014), "Enteroviral encephalitis in children: clinical features, pathophysiology, and treatment advances", *Pathog Glob Health*, 108(5), pp. 216-222.
75. Jain P., Prakash S., Khan D.N. và cộng sự. (2017). Aetiology of acute encephalitis syndrome in Uttar Pradesh, India from 2014 to 2016. *J Vector Borne Dis*, pp. 311-316.
76. J. J. (2005), Rationale for adopting activity-based costing in hospitals-Three longitudinal case studies.
77. Jmor F., Emsley H.C.A., Fischer M. và cộng sự. (2008). The incidence of acute encephalitis syndrome in Western industrialised and tropical countries. *Virology Journal*, 5, 1–13, <<https://link.springer.com/articles/10.1186/1743-422X-5-134>>, accessed: 09/10/2020.
78. Jonhson R.T. (1996). Acute encephalitis. *Clin Infect Dis*, 23, pp. 219–226.
79. Josephine G., Aldaba A., Vito G. R., Jr., Amado O. T., et al. (2015), "Epidemiology of Japanese Encephalitis in the Philippines: A Systematic Review", *PLoS Negl Trop Dis.*, 9(3) : e0003630.
80. Juliá M.L., Colomina J., Domínguez V. và cộng sự. (2009). Meningitis outbreak caused by echovirus serotype 30 in the valencian community. *Enferm*

- Infec Microbiol Clin, pp. 263-268.
81. Kadambari S., Okike I., Ribeiro S., Ramsay M.E., Heath P.T., Sharland M., Ladhani S.N.(2014), “Seven-fold increase in viral meningo-encephalitis reports in England and Wales during 2004-2013”, *J Infect.* , 69(4), pp. 326-332.
 82. Kadambari S., Bukasa A., Okike I., Pebody R., Brown D., Gallimore C., Xerry J., Sharland M., Ladhani S. (2014), “Enterovirus infections in England and Wales, 2000-2011: the impact of increased molecular diagnostics”, *Clin Microbiol Infect*, 20(12), pp. 1289–1296.
 83. Karuppanasamy K., Saminathan M., Pavulraj S., Gopalakrishnan A. and Rai RB. (2013), "Acute Encephalitis Syndrome-A Complex Zoonotic Disease", *International Journal of Livestock Research*, 3(2), pp. 174-177.
 84. Kennedy P.G.E. (2004). Viral encephalitis: Causes, differential diagnosis, and management. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 75, pp. i10–i15.
 85. Kennedy P.G.E. và Chaudhuri A. (2002). Herpes simplex encephalitis. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, pp. 237-238.
 86. Kennedy P.G., Quan P.L., Lipkin W.I. (2017), “Viral Encephalitis of Unknown Cause: Current Perspective and Recent Advances”, *Viruses*, 9(6) pii: e138.
 87. Khetsuriani N., Holman R.C., và Anderson L.J. (2002). Burden of encephalitis-associated hospitalizations in the United States, 1988-1997. *Clin Infect Dis*, 35(2), pp.175–182.
 88. Khinchi YR., Kumar A., and Yadav S. (2010), "Study of acute encephalitis syndrome in children", *J College of Med SciNepal*, 6, pp. 7-13.
 89. Koskiniemi M., Korppi M., Mustonen K. và cộng sự. (1997). Epidemiology of encephalitis in children. A prospective multicentre study. *Eur J Pediatr*, 156(7), pp. 541–545.
 90. Kroneman A., Vennema H., Deforche K., Avoort H.V., Penaranda S., Oberste M.S., Vinje J.(2011), “An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses”, *J Clin Virol*, 51(2), pp. 121-5.

91. Kumar A., Shukla D., Kumar R., Idris M.Z., Misra U.K. et al. (2012), "Molecular epidemiological study of enteroviruses associated with encephalitis in children from India", *J Clin Microbiol*, 50 (11), pp. 3509-3512.
92. Kumar R. (2020). Understanding and managing acute encephalitis. F1000Research, pp. 1-10.
93. Kundu K., Dutta K. N.A.& B.A. (2013). Japanese encephalitis virus infection modulates the expression of suppressors of cytokine signaling (SOCS) in macrophages: implications for the hosts' innate immune response. *Cell Immunol*, 285(1–2), pp. 100–110.
94. Kupila L., Vuorinen T., Vainionpaa R. et al. (2006), "Etiology of aseptic meningitis and encephalitis in an adult population", *Neurology*, 66(1), pp.75-80.
95. LaBeaud A.D., Bashir F., và King C.H. (2011). Measuring the burden of arboviral diseases: The spectrum of morbidity and mortality from four prevalent infections. *Popul Health Metr*, 9(1), pp. 1–11.
96. Lekhjung J. T., et al. (2013), "Clinical profile and outcome of acute encephalitis syndrome (AES) patients treated in College of Medical Sciences-Teaching Hospital", *Journal of College of Medical Sciences-Nepal*, 9(2), pp. 31-37.
97. L K., T V., R V. và cộng sự. (2006). Etiology of aseptic meningitis and encephalitis in an adult population. *Neurology*, 66, pp. 75–80.
98. Looker K.J., Garnett G.P., và Schmid G.P. (2008). An estimate of the global prevalence and incidence of herpes simplex virus type 2 infection. *Bull World Health Organization*, 86, pp. 805-812.
99. Machado B.C., Ferreira R.D.S., Carmona R.D.C.C. và cộng sự. (2007). Aseptic meningitis by echovirus 30 in São Paulo State, Brazil. *Brazilian J Microbiol.*, 38, pp.97-103.
100. Mani T.R, Mohan Rao et al (1989). Surveillance for JE in villages near Madurai, Tamil Nadu, India. *Trans R Soc Trop Med Public Heal*, 20, pp.559–573.
101. M K., T R., và Al P.H. et (2001). Infections of the central nervous system of

- suspected viral origin: a collaborative study from Finland. *J Neurovirol*, 7, pp.400–407.
102. M. L., N.A. P., N. H.R.A.P. và cộng sự. (2013). JE-ADVAX vaccine protection against Japanese encephalitis virus mediated by memory B cells in the absence of CD8(+) T cells and pre-exposure neutralizing antibody. *J Virol*, 87(8), pp.4395–4402.
103. Nabeshima T., Nga P. T., Guillermo P. , et al. (2008), "Isolation and molecular characterization of Banna virus derived from mosquitoes in Northern and Central Vietnam", *Emerging Infectious Disease Journal*, 14(8), pp. 1276-1279.
104. Newbrander W. và Lewis E. (1999), HOSPITAL COSTING MODEL MANUAL Health Reform and Financing Program & APHIA Financing and Sustainability Project Management Sciences for Health, pp. 1-15.
105. Nga P.T., Gouilh M.A., Paireau J., Loan D.P., Cheval J., Nghia N.D., Hesbert C., Tuan N.H., Lortholary O., Tondeur L., Manuguerra J.C., Barouki R., Sander J., Janzen N., Hien N.T., Brey P.T., Fontanet A., Eloit M. (2018), "Hypoglycemic Toxins and Enteroviruses AS Causes of Outbreaks of Acute Encephalitis-Like Syndrome in Children, Bac Giang Province, Northern Vietnam, *Emerg Infect Dis*, 24 (8), pp. 1436-1443.
106. Nga P.T., Phuong N.K., Yen N.T., Nam V.S., Lien H.P., Tien T.V.(1996), "Transmission of Japanese encephalitis (JE) virus in Gia Luong district, Ha Bac province, Vietnam, after JE vaccination, 1993 – 1994", *Tropical Medicine*, 37(4), pp. 129-134.
107. Nghia Ho Dang Trung. Tu Le Thi Phuong. Marcel Wolbers và cộng sự (2012). Aetiologies of Central Nervous System Infection in Viet Nam: A Prospective Provincial Hospital- Based Descriptive Surveillance Study. *PLoS One*, 7(5), e37825.
108. Nitatpattana N., Dubot-Pérès A, Gouilh M.A. , et al. (2008), "Change in Japanese encephalitis virus distribution, Thailand", *Emerg Infect Dis.*, 14, pp. 1762-1765.

109. NT Y., MR D., NM H. và cộng sự. (2010). Surveillance for Japanese encephalitis in Vietnam, 1998–2007. *Am J Trop Med Hyg*, 83, pp. 816–819.
110. Ooi M.H., Wong S.C., Abdullah A.R., Wong S.Y., Krishnan S., Tio P.H. et al (2008), "A decade of Japanese encephalitis surveillance in Sarawak, Malaysia: 1997–2006", *Trop Med Int Health*, 13, pp. 52-55.
111. Prevention C. for D.C. and (2013). Introduction to cost analysis. <<http://www.cdc.gov/owcd/eet/Cost/Fixed/Appendices.Html>>.
112. Pons-Salort M., Parker E.P., Grassly NC., (2015), “The epidemiology of non-polio enteroviruses: recent advances and outstanding questions”, *Current Opinion in Infectious Diseases*, 28(5), pp. 479-487.
113. Paireau J., Tuan N. H., Lefrancois R., et al. (2012), "Litchi-associated acute encephalitis in children, Northern Vietnam, 2004-2009", *Emerg Infect Dis*, 18 (11), pp. 1817-24.
114. Quân T.M., Như T.T.T., Duy N.M. và cộng sự. (2019). Estimates of the global burden of Japanese Encephalitis and the impact of 1 vaccination from 2000-2015. medRxiv, 19006940.
115. Qui P.T., Tan L.V, Ha D.Q., Hieu N.B, Bao L.Q., Cam B.V., Khanh T.H, Hien T.T., Chau N.V.V., Tam T.T, Hien V.M., Nga T.V.T, Schultsz C., Farra J.(2010), "Viral Etiology of Encephalitis in Children in Southern Vietnam: Results of a One-Year Prospective Descriptive Study", *PLoS Negl Trop*, 4(10): e854.
116. Ross E. R., Jenna M. T., Ginger T., and Ralph F. (2011), Enterovirus Infections of the Central Nervous System Review, *Virology*, 411(2), pp. 288–305.
117. Sapkal G.N., Bondre V.P., Fulmali P.V., Patil P., Gopalkrishna V., Dadhania V., et al. (2009), “Enteroviruses in patients with acute encephalitis, Uttar Pradesh, India.”, *Emerg Infect Dis*. 15, pp. 295-298.
118. Schuh A.J., Guzman H., Tesh R.B., Barrett A.D.(2013), “Genetic Diversity of Japanese Encephalitis Virus Isolates Obtained from the Indonesian Archipelago Between 1974 and 1987”, *Vector Borne and Zoonotic Diseases*,

- 13, pp. 479–488.
119. Shailendra K., Sneham T., Rakhi S., Asha M. and Madhavan P.N. (2011), Japanese Encephalitis: An Emerging and Spreading Arbovirosis, *Flavivirus Encephalitis*, Chapter: 15, pp. 295-316.
 120. Sohn Y.M. (2000), “Japanese Encephalitis Immunization in South Korea: Past, Present, and Future”, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 6. pp.17-24.
 121. Solomon T., Hart I.J., và Beeching N.J. (2007). Viral encephalitis: a clinician’s guide. *Pr Neurol*, 7, pp. 288–305.
 122. Solomon T., Thao T.T., Lewthwaite P., Ooi M.H., Kneen R., Dung N.M., et al (2008), “A cohort study to assess the new WHO Japanese encephalitis surveillance standards”, *Bull World Health Organ*, 86(3), pp. 178-186.
 123. Chester J. Stojanovich và Harold Georje Scott (1965), *Illustrated Key to Aedes Mosquitoes of Vietnam*, U. S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, Communicable Disease Center. 131 pps.
 124. C.L., Yang C.F., Teng H.J., et al. (2014), “Japanese encephalitis epidemic season in humans and MLE of the JEV infection rates in mosquitoes by month during 2005–2012”, *PLoS Negl Trop Dis*, 8(10): e3122.
 125. Sun Y., Miao Z., Yan J., Gong L., Chen Y., Mao H., Zhang Y. (2019), “Sero-molecular epidemiology of enterovirus-associated encephalitis in Zhejiang Province, China, from 2014 to 2017”, *Int J Infect Dis*, 79, pp. 58-64.
 126. Su C.L., Yang C.F., Teng H.J. và cộng sự. (2014). Molecular Epidemiology of Japanese Encephalitis Virus in Mosquitoes in Taiwan during 2005–2012. *PLoS Negl Trop Dis*. 8(10):e3122, 13 pps.
 127. Takamatsu Y., Uchida L., Nga P.T., et al (2013), “An approach for differentiating echovirus 30 and Japanese encephalitis virus infections in acute meningitis/encephalitis: a retrospective study of 103 cases in Vietnam”, *Virology*, 10, 280 pp.
 128. Tam N.H. và Yen N.T.T. (1995). Japanese encephalitis in Vietnam 1985- 1993. *J Trop Med Public Heal*, 26 Suppl, pp.47–50.

129. Tan le V., Thai le H., Phu NH. et al. (2014), "Viral aetiology of central nervous system infections in adults admitted to a tertiary referral hospital in southern Vietnam over 12 years", *PLoS Negl Trop Dis*, 8(8): e3127.
130. Thoelen I., Lemey P., Van der Donck I. và cộng sự. (2003). Molecular typing and epidemiology of enteroviruses identified from an outbreak of aseptic meningitis in Belgium during the summer of 2000. *J Med Virol*. 70(3), pp.420-429.
131. Tao Z., Wang H., Li Y. và cộng sự. (2014). Molecular epidemiology of human enterovirus associated with aseptic meningitis in Shandong Province, China, 2006-2012. *PLoS One*. 9(2), p.e89766, pp. 1-10.
132. Tarantola, A., Goutard, F., Newton, P., et al. (2014), "Estimating the Burden of Japanese Encephalitis Virus and Other Encephalitides in Countries of the Mekong Region", *PLoS Negl Trop Dis*, 8(1), p. e2533.
133. Touch S., Hills S, Sokhal B, et al. (2009), "Epidemiology and burden of disease from Japanese encephalitis in Cambodia: Results from two years of sentinel surveillance", *Trop Med Int Health*, 14, pp. 1365-1373.
134. Tyler K.L. (2004), "Herpes simplex virus infections of the central nervous system: encephalitis and meningitis, including Mollaret's", *Herpes*, 11(2), pp. 57A-64A.
135. T. S., N.M. D., R. K. và cộng sự. (2000). Japanese encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 68(4), pp. 405–415.
136. T S. (2004). Flavivirus encephalitis. *N Engl J Med*, 351(370–378).
137. Turner P., Suy K., Tan L. Van và cộng sự. (2017). The aetiologies of central nervous system infections in hospitalised Cambodian children. *BMC Infect Dis*, 17(1), pp. 1–9.
138. V.K. H. và W.R. T. (2001). Update on viral encephalitis. *Curr Opin Neurol*.
139. Wang H. and Liang G. (2015), "Epidemiology of Japanese encephalitis: past, present, and future prospects", *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 11, pp. 435-448.

140. Ward KN., Ohrling A., Bryant NJ. et al. (2012), "Herpes simplex serious neurological disease in young children: incidence and long-term outcome", *Arch Dis Child*, 97(2), pp. 162-165.
141. World Health Organization (2003), "WHO-recommend standards for surveillance of selected vaccine-preventable diseases", *Vaccines and Biologicals/03.01*, pp.45-52.
142. World Health Organization (2014). Tick-borne encephalitis. <http://www.who.int/immunization/diseases/tick_encephalitis/en/>.
143. World Health Organization (2014), "Japanese encephalitis", Mediacentre Fact sheet No 386, March 2014. 180 pps.
144. World Health Organization (2016), Herpes simplex virus, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs400/en/>.
145. World Health Organization (2019), Japanese encephalitis, .
146. Yen N.T., Duffy M.R., Hong N.M. và cộng sự. (2010). Surveillance for Japanese encephalitis in Vietnam, 1998-2007. *Am J Trop Med Hyg*, 83(4), pp. 816–819.
147. Zhang L. et al, (2013), “Novel and predominant pathogen responsible for the enterovirus-associated encephalitis in eastern China”, *PloS one*, vol. 8,12 e85023.
148. Zhu Y., Zhou X., Liu J. và cộng sự. (2016). Molecular identification of human enteroviruses associated with aseptic meningitis in Yunnan province, Southwest China. *Springerplus*. 5(1), pp.1-8.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1:

DANH SÁCH ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU ĐƯỢC MÃ HOÁ

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|----|-----------|-------|----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | | | | | | | | |
| 1 | Điện Biên | NH | 6 | DB | 7860 | 13/07/2017 | Nữ | Con nho | Hmong |
| 2 | Điện Biên | NH | 1 | DB | 6001 | 07/10/2016 | Nam | Con nho | HMong |
| 3 | Điện Biên | TC | 2 | DB | 6002 | 26/05/2016 | Nữ | Con nho | HMong |
| 4 | Điện Biên | TN | 3 | DB | 6003 | 15/06/1972 | Nam | Lam ruong | Thai |
| 5 | Điện Biên | TC | 4 | DB | 6004 | 01/01/1961 | Nam | Lam ruong | Hmong |
| 6 | Điện Biên | NH | 5 | DB | 6005 | 25/11/2014 | Nam | Con nho | Thai |
| 7 | Điện Biên | NH | 6 | DB | 6006 | 29/10/2016 | Nam | Con nho | HMong |
| 8 | Điện Biên | TC | 7 | DB | 6007 | 01/01/1957 | Nam | Nong Dan | Kinh |
| 9 | Điện Biên | TC | 8 | DB | 6008 | 01/01/1989 | Nữ | Lam ruong | HMong |
| 10 | Điện Biên | NH | 9 | DB | 6009 | 20/08/2016 | Nữ | Con nho | Lao |
| 11 | Điện Biên | NH | 10 | DB | 6010 | 25/11/2012 | Nam | Con nho | HMong |
| 12 | Điện Biên | NH | | DB | 6011 | 19/02/2017 | Nam | Con nho | HMong |
| 13 | Điện Biên | NH | 41 | DB | 6012 | 10/02/2009 | Nam | Hoc sinh | THai |
| 14 | Điện Biên | TN | 13 | DB | 7523 | 10/12/1983 | Nam | Lam ruong | Thai |
| 15 | Điện Biên | NH | 14 | DB | 7524 | 11/11/2016 | Nam | Con nho | Kinh |
| 16 | Điện Biên | NH | 12 | DB | 7525 | 26/10/2016 | Nữ | Con nho | HMong |
| 17 | Điện Biên | NH | 11 | DB | 7526 | 10/09/2016 | Nữ | Con Nho | HMong |
| 18 | Điện Biên | NH | 15 | DB | 7797 | 21/06/2016 | Nam | Con nho | HMong |
| 19 | Điện Biên | NH | 17 | DB | 7798 | 15/01/2016 | Nam | Con nho | HMong |
| 20 | Điện Biên | TN | 18 | DB | 7799 | 15/06/2006 | Nữ | Hoc Sinh | Thai |
| 21 | Điện Biên | NH | 19 | DB | 7800 | 15/06/2013 | Nữ | CO nho | THai |
| 22 | Điện Biên | NH | 20 | DB | 7801 | 10/06/2016 | Nam | Con nho | HMong |
| 23 | Điện Biên | NH | 21 | DB | 7802 | 16/07/2013 | Nữ | Con nho | HMong |
| 24 | Điện Biên | TN | 22 | DB | 7803 | 15/06/1979 | Nữ | Lam ruong | Thai |
| 25 | Điện Biên | TN | 23 | DB | 7804 | 13/03/2002 | Nữ | Hoc sinh | THai |
| 26 | Điện Biên | TN | 24 | DB | 7805 | 15/01/2017 | Nam | Con Nho | Thai |
| 27 | Điện Biên | TN | 25 | DB | 7806 | 15/06/2004 | Nam | Hoc sinh | Thai |
| 28 | Điện Biên | TN | 26 | DB | 7807 | 15/06/2011 | Nữ | Hoc sinh | Thai |
| 29 | Điện Biên | TN | 27 | DB | 7808 | 15/06/2008 | Nữ | Hoc sinh | HMong |
| 30 | Điện Biên | TN | 28 | DB | 7809 | 20/10/2009 | Nam | Hoc sinh | Thai |
| 31 | Điện Biên | TN | 29 | DB | 7810 | 10/05/2007 | Nam | Hoc sinh | HMong |
| 32 | Điện Biên | TN | 30 | DB | 7811 | 26/10/2007 | Nữ | Hoc sinh | HMong |
| 33 | Điện Biên | TN | 31 | DB | 7812 | 15/06/1982 | Nữ | Lam ruong | Kho Mu |
| 34 | Điện Biên | TN | 32 | DB | 7813 | 01/01/1983 | Nam | Lam ruong | Thai |
| 35 | Điện Biên | NH | 33 | DB | 7814 | 21/02/2017 | Nữ | Con nho | HMong |
| 36 | Điện Biên | TN | 34 | DB | 7815 | 15/06/2004 | Nữ | Hoc sinh | HMong |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|----|-----------|-------|----|----|------|------------|-----------|-----------------|---------|
| | | NH | 35 | DB | 7816 | | | | |
| 37 | Điện Biên | NH | 35 | DB | 7816 | 15/02/2017 | Nữ | Con nho | Hmong |
| 38 | Điện Biên | NH | 36 | DB | 7817 | 14/02/2017 | Nam | Con nho | HMong |
| 39 | Điện Biên | NH | 37 | DB | 7818 | 01/02/2017 | Nữ | Con nho | Thai |
| 40 | Điện Biên | NH | 38 | DB | 7819 | 03/05/2017 | Nam | Con nho | HMong |
| 41 | Điện Biên | NH | 39 | DB | 7820 | 19/01/2017 | Nữ | Con nho | HMong |
| 42 | Điện Biên | TN | 3 | DB | 7856 | 14/08/1960 | Nam | Nghi huu | Kinh |
| 43 | Điện Biên | NH | 4 | DB | 7858 | 27/10/2007 | Nữ | Hoc sinh | Mong |
| 44 | Điện Biên | NH | 5 | DB | 7859 | 10/01/2018 | Nữ | Con nho | Hmong |
| 45 | Điện Biên | TN | 11 | DB | 7912 | 15/06/2001 | Nữ | Lam ruong | HMong |
| 46 | Điện Biên | NH | 7 | DB | 7942 | 15/06/2017 | Nam | Con nho | Hmong |
| 47 | Điện Biên | TC | 8 | DB | 7943 | 29/04/2014 | Nữ | Con nho | Kinh |
| 48 | Điện Biên | NH | 9 | DB | 7944 | 01/01/2018 | Nam | Con nho | Hmong |
| 49 | Điện Biên | NH | 10 | DB | 7945 | 30/08/2017 | Nữ | Con nho | HMong |
| 50 | Điện Biên | TN | 12 | DB | 7946 | 01/01/1960 | Nữ | Lam ruong | THai |
| 51 | Điện Biên | NH | 13 | DB | 7947 | 22/06/2017 | Nam | Con Nho | Hmong |
| 52 | Điện Biên | TN | 14 | DB | 7948 | 10/09/1962 | Nam | Lam ruong | Thai |
| 53 | Điện Biên | TN | 17 | DB | 8057 | 12/01/1989 | Nam | Lam ruong | Thai |
| 54 | Điện Biên | TN | 16 | DB | 8058 | 26/02/1998 | Nam | Sinh Vien | Thai |
| 55 | Điện Biên | NH | 18 | DB | 8093 | 26/08/2012 | Nam | Con nho | 999 |
| 56 | Điện Biên | TN | 19 | DB | 8094 | 04/03/2004 | Nam | Hoc sinh | Thai |
| 57 | Điện Biên | NH | 20 | DB | 8095 | 28/12/2017 | Nam | Con nho | Mong |
| 58 | Điện Biên | NH | 21 | DB | 8096 | 10/01/2018 | Nữ | COon nho | Mong |
| 59 | Điện Biên | Tn | 22 | DB | 8097 | 05/06/1998 | Nam | Bo doi nghĩa vụ | Hmong |
| 60 | Điện Biên | TN | 23 | DB | 8098 | 07/08/1999 | Nam | Bo doi nghĩa vụ | Hmong |
| 61 | Điện Biên | NH | 24 | DB | 8099 | 26/10/2017 | Nam | Con nho | HMong |
| 62 | Điện Biên | NH | 25 | DB | 8100 | 21/10/2017 | Nam | Con nho | HMong |
| 63 | Điện Biên | NH | 27 | DB | 8101 | 01/05/2018 | Nữ | Con nho | HMong |
| 64 | Điện Biên | NH | 26 | DB | 8102 | 27/03/2016 | Nam | Con nho | Thai |
| 65 | Điện Biên | NH | 32 | DB | 8161 | 10/03/2015 | Nữ | Con Nho | Hmong |
| 66 | Điện Biên | TN | 33 | DB | 8162 | 30/06/1996 | Nam | Khong ro | Lao |
| 67 | Điện Biên | TC | 34 | DB | 8163 | 10/02/2008 | Nam | Hoc sinh | Hmong |
| 68 | Điện Biên | TN | 31 | DB | 8164 | 27/04/2014 | Nam | Con nho | Thai |
| 69 | Điện Biên | TC | 29 | DB | 8165 | 07/09/1989 | Nam | Lam ruong | HMong |
| 70 | Điện Biên | TN | 28 | DB | 8166 | 01/01/1983 | Nữ | Lam ruong | THai |
| 71 | Điện Biên | TN | 30 | DB | 8167 | 03/09/2010 | Nam | Lam ruong | Hmong |
| 72 | Điện Biên | NH | 35 | DB | 8229 | 04/06/2017 | Nam | Con nho | Mong |
| 73 | Điện Biên | NH | 36 | DB | 8230 | 16/03/2009 | Nữ | Hoc sinh | Cao Lan |
| 74 | Điện Biên | TN | 37 | DB | 8231 | 15/08/2008 | Nam | Hoc sinh | Mong |
| 75 | Điện Biên | CC | 38 | DB | 8232 | 30/06/1962 | Nam | Lam ruong | Mong |
| 76 | Điện Biên | TN | 39 | DB | 8233 | 09/01/1983 | Nam | Lam ruong | THai |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|-----------|-------|----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | TC | DB | DB | 8245 | | | | |
| 77 | Điện Biên | TC | 40 | DB | 8245 | 11/05/2008 | Nữ | Hoc sinh | THai |
| 78 | Điện Biên | TC | 49 | DB | 8270 | 10/04/1982 | Nam | Lam ruong | HMong |
| 79 | Điện Biên | TC | 42 | DB | 8271 | 01/04/1997 | Nam | Lam ruong | Hmong |
| 80 | Điện Biên | TC | 43 | DB | 8272 | 02/11/2002 | Nam | Lam ruong | Hmong |
| 81 | Điện Biên | NH | 44 | DB | 8277 | 25/02/2015 | Nam | CO nho | Thai |
| 82 | Điện Biên | NH | 45 | DB | 8278 | 30/03/2015 | Nam | Con nho | Mong |
| 83 | Điện Biên | TN | 46 | DB | 8311 | 09/09/2006 | Nữ | Hoc sinh | Thai |
| 84 | Điện Biên | CC | 47 | DB | 8312 | 02/01/1951 | Nam | Lam ruong | Hmong |
| 85 | Điện Biên | CC | 48 | DB | 8313 | 03/06/2014 | Nam | Con nho | Hmong |
| 86 | Điện Biên | CC | 49 | DB | 8314 | 05/09/1999 | Nam | Lam ruong | Hmong |
| 87 | Điện Biên | NH | 53 | DB | 8450 | 11/06/2014 | Nam | Con nho | Hmong |
| 88 | Điện Biên | NH | 54 | DB | 8451 | 11/04/2016 | Nam | Con nho | Hmong |
| 89 | Điện Biên | TC | 55 | DB | 8452 | 15/05/1992 | Nữ | Lam ruong | Ho Mong |
| 90 | Điện Biên | TN | 56 | db | 8464 | 31/08/1963 | Nữ | lam ruong | kinh |
| 91 | Lào Cai | CC | 35 | LC | 6015 | 21/09/2010 | Nam | Hoc sinh | HMong |
| 92 | Lào Cai | TN | 4 | LC | 6016 | 07/06/1979 | Nam | Nong Dan | Dao |
| 93 | Lào Cai | CC | 55 | LC | 6017 | 15/10/2016 | Nam | Con nho | Hmong |
| 94 | Lào Cai | TN | 12 | LC | 6018 | 08/08/1990 | Nữ | Nong dan | Tay |
| 95 | Lào Cai | TN | 13 | LC | 6019 | 05/10/1984 | Nữ | Tu do | Kinh |
| 96 | Lào Cai | CC | 2 | LC | 7547 | 22/01/2012 | Nữ | Hoc sinh | Tay |
| 97 | Lào Cai | CC | 1 | LC | 7548 | 02/10/2014 | Nam | Con nho | HMong |
| 98 | Lào Cai | CC | 3 | LC | 7549 | 12/04/2016 | Nam | Con nho | Tay |
| 99 | Lào Cai | CC | 4 | LC | 7557 | 30/11/2002 | Nữ | Hoc sinh | HMong |
| 100 | Lào Cai | CC | 5 | LC | 7558 | 22/12/2015 | Nữ | Tre em | Kinh |
| 101 | Lào Cai | CC | 6 | LC | 7589 | 11/04/2015 | Nữ | Tre em | Mong |
| 102 | Lào Cai | CC | 7 | LC | 7590 | 16/09/2011 | Nam | Tre em | Mong |
| 103 | Lào Cai | CC | 8 | LC | 7594 | 08/02/2016 | Nữ | Tre em | Ba Na |
| 104 | Lào Cai | CC | 9 | LC | 7595 | 22/03/2015 | Nữ | Tre em | Kinh |
| 105 | Lào Cai | DK | 10 | LC | 7613 | 04/02/1996 | Nữ | Nong dan | Mong |
| 106 | Lào Cai | CC | 11 | LC | 7619 | 24/10/2016 | Nam | Tre em | Mong |
| 107 | Lào Cai | CC | 12 | LC | 7620 | 11/05/2002 | Nữ | Nong dan | Mong |
| 108 | Lào Cai | CC | 16 | LC | 7669 | 14/05/2016 | Nam | Tre em | Dao |
| 109 | Lào Cai | HS | 15 | LC | 7670 | 13/12/2002 | Nữ | Hoc sinh | Dao |
| 110 | Lào Cai | HS | 14 | LC | 7671 | 08/05/2014 | Nam | Tre nho | Mong |
| 111 | Lào Cai | HS | 13 | LC | 7672 | 20/05/2003 | Nam | Hoc sinh | Mong |
| 112 | Lào Cai | CC | 3 | LC | 7702 | 25/04/2011 | Nam | Hoc sinh | HMong |
| 113 | Lào Cai | CC | 18 | LC | 7703 | 02/05/2003 | Nữ | Hoc sinh | HMong |
| 114 | Lào Cai | CC | 19 | LC | 7704 | 15/01/2016 | Nữ | Tre em | HMong |
| 115 | Lào Cai | CC | 20 | LC | 7711 | 27/10/2013 | Nam | Tre em | Mong |
| 116 | Lào Cai | CC | 21 | LC | 7777 | 06/06/2015 | Nữ | Tre em | Nung |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|---------|-------|----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | CC | | LC | | | | | |
| 117 | Lào Cai | CC | 22 | LC | 7853 | 03/07/2017 | Nữ | Tre em | HMong |
| 118 | Lào Cai | CC | 24 | LC | 7949 | 20/08/2008 | Nam | Hoc sinh | Dao |
| 119 | Lào Cai | TN | 23 | LC | 7950 | 14/11/1955 | Nam | Nong dan | Dao |
| 120 | Lào Cai | CC | 26 | LC | 7973 | 05/04/2016 | Nam | Tre em | Dao |
| 121 | Lào Cai | CC | 27 | LC | 7974 | 13/03/2018 | Nữ | Tre nho | Kinh |
| 122 | Lào Cai | CC | 25 | LC | 7975 | 05/11/2014 | Nữ | Tre nho | Phu La |
| 123 | Lào Cai | CC | 28 | LC | 8025 | 03/05/2018 | Nữ | Tre nho | HMong |
| 124 | Lào Cai | CC | 29 | LC | 8026 | 07/02/2018 | Nam | Con Nho | HMong |
| 125 | Lào Cai | CC | 30 | LC | 8027 | 31/07/2012 | Nam | Hoc sinh | Tay |
| 126 | Lào Cai | CC | 31 | LC | 8059 | 22/03/2018 | Nữ | Tre em | HMong |
| 127 | Lào Cai | TN | 32 | LC | 8060 | 01/10/2001 | Nữ | Hoc sinh | Dao |
| 128 | Lào Cai | TN | 1 | LC | 8062 | 10/07/1993 | Nữ | CAN BO | Nung |
| 129 | Lào Cai | CC | 34 | LC | 8073 | 14/03/2015 | Nữ | Con nho | Giang |
| 130 | Lào Cai | CC | 36 | LC | 8173 | 03/09/2014 | Nữ | Tre em | HMong |
| 131 | Lào Cai | TN | 3 | LC | 8174 | 10/02/1982 | Nữ | Nong dan | Tay |
| 132 | Lào Cai | CC | 37 | LC | 8175 | 16/12/2013 | Nam | Hoc sinh | HMong |
| 133 | Lào Cai | CC | 38 | LC | 8176 | 18/04/2009 | Nam | Hoc sinh | Dao |
| 134 | Lào Cai | NH | 3 | LC | 8224 | 20/07/2014 | Nam | Con nho | HMong |
| 135 | Lào Cai | CC | 39 | LC | 8225 | 19/10/2017 | Nữ | Tre em | Dao |
| 136 | Lào Cai | CC | 40 | LC | 8226 | 13/01/2006 | Nữ | Hoc sinh | Dao |
| 137 | Lào Cai | TN | 5 | LC | 8227 | 13/03/1973 | Nam | Nong Dan | Tay |
| 138 | Lào Cai | CC | 41 | LC | 8228 | 14/08/2007 | Nam | Hoc sinh | Nung |
| 139 | Lào Cai | CC | 43 | LC | 8246 | 23/10/2013 | Nữ | Tre em | Phu La |
| 140 | Lào Cai | CC | 42 | LC | 8247 | 20/09/2012 | Nam | Tre em | HMong |
| 141 | Lào Cai | CC | 44 | LC | 8267 | 02/05/2013 | Nữ | Tre em | Mong |
| 142 | Lào Cai | CC | 45 | LC | 8268 | 01/06/2017 | Nữ | Tre em | HMong |
| 143 | Lào Cai | CC | 46 | LC | 8269 | 17/02/2017 | Nam | Tre em | Mong |
| 144 | Lào Cai | CC | 48 | LC | 8288 | 15/04/2014 | Nữ | Tre em | HMong |
| 145 | Lào Cai | CC | 47 | LC | 8289 | 29/03/2004 | Nam | Hoc sinh | Dao |
| 146 | Lào Cai | CC | 50 | LC | 8315 | 14/08/2007 | Nam | Hoc sinh | Nung |
| 147 | Lào Cai | CC | 49 | LC | 8316 | 20/10/2016 | Nam | Tre em | HMong |
| 148 | Lào Cai | CC | 51 | LC | 8317 | 08/07/2017 | Nam | Tre em | Kinh |
| 149 | Lào Cai | CC | 52 | LC | 8318 | 01/01/2006 | Nam | Hoc sinh | Hmong |
| 150 | Lào Cai | TN | 7 | LC | 8327 | 13/03/1981 | Nữ | Tu do | Kinh |
| 151 | Lào Cai | TN | 6 | LC | 8328 | 26/10/1968 | Nữ | Tu do | Dao |
| 152 | Lào Cai | TH | 9 | LC | 8377 | 16/05/1966 | Nữ | Huu tri | Kinh |
| 153 | Lào Cai | CC | 53 | LC | 8411 | 10/10/2017 | Nam | Tre em | Hmong |
| 154 | Lào Cai | TN | 10 | LC | 8444 | 01/06/1960 | Nữ | Tu Do | Tay |
| 155 | Lào Cai | CC | 54 | LC | 8445 | 17/04/2011 | Nữ | Hoc sinh | Kinh |
| 156 | Lào Cai | TN | 11 | LC | 8473 | 18/02/1964 | Nam | Tu do | Kinh |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|---------|-------|-----|----|------|------------|-----------|-------------|-----------|
| | | CC | 56 | LC | 8474 | | | | |
| 157 | Lào Cai | CC | 56 | LC | 8474 | 08/09/2018 | Nữ | Tre nho | Mong |
| 158 | Lào Cai | CC | 33 | LC | 8061 | 21/10/2017 | Nam | CO nho | H'Mong |
| 159 | Son La | 99 | 999 | SL | 6013 | 03/06/2014 | Nam | TRE EM | MONG |
| 160 | Son La | TN | 153 | SL | 6014 | 01/01/1975 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 161 | Son La | TN | 1 | SL | 7420 | 01/06/2006 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 162 | Son La | NH | 15 | SL | 7503 | 10/08/2016 | Nam | TRE NHO | H'MONG |
| 163 | Son La | NH | 14 | SL | 7504 | 06/11/2016 | Nam | TRE NHO | H'MONG |
| 164 | Son La | NH | 3 | SL | 7505 | | Nữ | CAN BO | LAO |
| 165 | Son La | TN | 2 | SL | 7506 | 10/06/2006 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 166 | Son La | NH | 8 | SL | 7507 | 29/10/2016 | Nam | TRE EM | H'MONG |
| 167 | Son La | NH | 9 | SL | 7508 | 17/11/2014 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 168 | Son La | NH | 10 | SL | 7509 | 14/06/2016 | Nam | TRE EM | THAI |
| 169 | Son La | NH | 21 | SL | 7510 | 05/09/2016 | Nam | TRE EM | H'MONG |
| 170 | Son La | NH | 24 | SL | 7511 | 06/10/2016 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 171 | Son La | TN | 23 | SL | 7512 | 03/05/2005 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 172 | Son La | TN | 26 | SL | 7513 | | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 173 | Son La | TN | 28 | SL | 7514 | 10/10/2004 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 174 | Son La | TN | 27 | SL | 7515 | 12/04/1989 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 175 | Son La | NH | 37 | SL | 7516 | 02/04/2017 | Nam | TRE EM | THAI |
| 176 | Son La | NH | 43 | SL | 7517 | 06/03/2016 | Nam | TRE EM | THAI |
| 177 | Son La | TN | 35 | SL | 7518 | 20/02/1988 | Nam | Nong Dan | THAI |
| 178 | Son La | TN | 31 | SL | 7519 | 10/10/1996 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 179 | Son La | TN | 19 | SL | 7520 | 11/03/2001 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 180 | Son La | NH | 18 | SL | 7521 | 20/02/2017 | Nữ | TRE EM | KHONG GHI |
| 181 | Son La | TN | 20 | SL | 7522 | 26/02/1978 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 182 | Son La | TN | 61 | SL | 7551 | 13/04/2008 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 183 | Son La | TN | 62 | SL | 7552 | 24/02/2011 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 184 | Son La | NH | 58 | SL | 7553 | 12/09/2013 | Nam | TRE EM | THAI |
| 185 | Son La | TN | 54 | SL | 7569 | 26/05/2002 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 186 | Son La | TN | 57 | SL | 7570 | 22/01/2014 | Nam | TRE EM | THAI |
| 187 | Son La | TN | 64 | SL | 7571 | 01/01/1937 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 188 | Son La | TN | 62 | SL | 7572 | 24/02/2011 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 189 | Son La | TN | 49 | SL | 7573 | 01/08/2005 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 190 | Son La | TN | 82 | SL | 7606 | 17/01/2005 | Nam | HOC SINH | H'MONG |
| 191 | Son La | TN | 85 | SL | 7607 | 19/10/1993 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 192 | Son La | TN | 68 | SL | 7608 | 16/11/2011 | Nữ | TRE EM | THAI |
| 193 | Son La | TN | 89 | SL | 7609 | 01/01/1990 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 194 | Son La | TN | 92 | SL | 7610 | 18/04/2013 | Nam | TRE EM | MUONG |
| 195 | Son La | TN | 88 | SL | 7611 | 01/01/1998 | Nam | NONG DAN | THAI |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|--------|-------|-----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | NH | SL | SL | SL | | | | |
| 196 | Son La | NH | 103 | SL | 7665 | 13/08/2015 | Nữ | TRE EM | THAI |
| 197 | Son La | NH | 95 | SL | 7666 | 26/01/2017 | Nữ | TRE EM | MUONG |
| 198 | Son La | TN | 109 | SL | 7674 | 17/11/1998 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 199 | Son La | TN | 110 | SL | 7675 | 20/10/1992 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 200 | Son La | TN | 113 | SL | 7700 | 24/05/2007 | Nam | Hoc sinh | KINH |
| 201 | Son La | TN | 105 | SL | 7701 | 15/07/1968 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 202 | Son La | TN | 116 | SL | 7710 | 09/01/1979 | Nữ | NONG DAN | H'MONG |
| 203 | Son La | NH | 123 | SL | 7768 | 06/12/2011 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 204 | Son La | NH | 124 | SL | 7769 | 05/02/2007 | Nam | Hoc sinh | H'MONG |
| 205 | Son La | TN | 127 | SL | 7778 | | Nam | NONG DAN | THAI |
| 206 | Son La | TN | 126 | SL | 7779 | | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 207 | Son La | TN | 130 | SL | 7787 | 01/01/1959 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 208 | Son La | TN | 1 | SL | 7844 | 04/04/1991 | Nam | NONG DAN | KINH |
| 209 | Son La | TN | 6 | SL | 7845 | 05/01/2002 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 210 | Son La | TN | 4 | SL | 7846 | 01/01/1968 | Nam | NONG DAN | H'MONG |
| 211 | Son La | TN | 2 | SL | 7847 | 20/06/1991 | Nam | NONG DAN | H'MONG |
| 212 | Son La | TN | 7 | SL | 7851 | 01/01/1992 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 213 | Son La | TN | 5 | SL | 7852 | 13/06/1999 | Nam | SINH VIEN | KINH |
| 214 | Son La | TN | 14 | SL | 7871 | 01/01/1994 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 215 | Son La | TN | 15 | SL | 7872 | 01/10/2004 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 216 | Son La | TN | 12 | SL | 7873 | 01/07/1972 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 217 | Son La | TN | 13 | SL | 7874 | 16/07/2010 | Nam | Hoc sinh | KINH |
| 218 | Son La | TN | 18 | SL | 7875 | 07/01/2003 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 219 | Son La | TN | 27 | SL | 7899 | 05/11/2003 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 220 | Son La | TN | 24 | SL | 7900 | 21/07/2006 | Nữ | Hoc sinh | KINH |
| 221 | Son La | TN | 19 | SL | 7901 | 24/10/1995 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 222 | Son La | TN | 21 | SL | 7902 | 20/07/2005 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 223 | Son La | TN | 22 | SL | 7903 | 25/03/2007 | Nữ | Hoc sinh | KINH |
| 224 | Son La | TN | 20 | SL | 7904 | 09/12/1989 | Nữ | CAN BO | KINH |
| 225 | Son La | TN | 28 | SL | 7909 | 28/09/1991 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 226 | Son La | TN | 26 | SL | 7910 | 24/10/1973 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 227 | Son La | TN | 25 | SL | 7911 | 31/10/2006 | Nam | Hoc sinh | KINH |
| 228 | Son La | TN | 31 | SL | 7917 | 24/06/2011 | Nam | Hoc sinh | KINH |
| 229 | Son La | NH | 32 | SL | 7918 | 25/10/2017 | Nam | TRE EM | H'MONG |
| 230 | Son La | TN | 35 | SL | 7919 | 18/10/1997 | Nữ | SINH VIEN | KINH |
| 231 | Son La | TN | 29 | SL | 7920 | 30/08/2008 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 232 | Son La | TN | 30 | SL | 7921 | 10/09/2017 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 233 | Son La | TN | 36 | SL | 7922 | 02/10/1985 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 234 | Son La | TN | 38 | SL | 7923 | 16/05/2014 | Nam | TRE EM | KINH |
| 235 | Son La | TN | 37 | SL | 7924 | 14/04/2009 | Nam | Hoc sinh | KINH |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|--------|-------|----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | | | | | | | | |
| 236 | Son La | TN | 40 | SL | 7933 | 10/05/1995 | Nữ | TU DO | THAI |
| 237 | Son La | TN | 44 | SL | 7934 | 06/01/1999 | Nữ | SINH VIEN | THAI |
| 238 | Son La | TN | 43 | SL | 7935 | 24/04/1980 | Nam | CONG NHAN | THAI |
| 239 | Son La | TN | 65 | SL | 7936 | 10/04/2009 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 240 | Son La | TN | 51 | SL | 7937 | 16/06/2003 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 241 | Son La | TN | 54 | SL | 7938 | 03/06/1996 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 242 | Son La | TN | 67 | SL | 7955 | 12/02/1997 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 243 | Son La | TN | 42 | SL | 7956 | 14/04/1991 | Nam | NONG DAN | H'MONG |
| 244 | Son La | TN | 45 | SL | 7957 | 01/01/1960 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 245 | Son La | TN | 46 | SL | 7958 | 27/06/2008 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 246 | Son La | TN | 53 | SL | 7959 | 24/03/1992 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 247 | Son La | SL | 52 | SL | 7960 | 23/06/1980 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 248 | Son La | TN | 57 | SL | 7962 | 10/10/1984 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 249 | Son La | TN | 56 | SL | 7963 | 11/08/1984 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 250 | Son La | TN | 75 | SL | 7964 | 20/06/2000 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 251 | Son La | TN | 76 | SL | 7965 | 27/08/1992 | Nam | TU DO | KINH |
| 252 | Son La | TN | 70 | SL | 7966 | 30/07/1992 | Nữ | TU DO | KINH |
| 253 | Son La | TN | 82 | SL | 7967 | 01/08/2004 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 254 | Son La | NH | 83 | SL | 7977 | 05/03/2018 | Nam | TRE EM | THAI |
| 255 | Son La | TN | 68 | SL | 7978 | 01/07/1989 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 256 | Son La | TN | 79 | SL | 7979 | 22/03/2008 | Nam | Hoc sinh | H'MONG |
| 257 | Son La | TN | 73 | SL | 7980 | 01/09/2013 | Nam | TRE EM | KINH |
| 258 | Son La | TN | 77 | SL | 7981 | 04/06/2000 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 259 | Son La | TN | 78 | SL | 7982 | 17/08/1958 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 260 | Son La | TN | 81 | SL | 8009 | 20/07/2012 | Nam | TRE EM | KINH |
| 261 | Son La | TN | 58 | SL | 8010 | 12/09/1993 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 262 | Son La | TN | 80 | SL | 8011 | 22/03/2003 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 263 | Son La | T | 60 | SL | 8012 | 01/01/1974 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 264 | Son La | TN | 59 | SL | 8013 | 09/02/1989 | Nữ | BUON BAN | THAI |
| 265 | Son La | TN | 64 | SL | 8014 | 27/11/2015 | Nam | TRE EM | THAI |
| 266 | Son La | TN | 62 | SL | 8015 | 12/08/1985 | Nữ | CAN BO | KINH |
| 267 | Son La | TN | 96 | SL | 8016 | 24/03/1993 | Nam | TU DO | KINH |
| 268 | Son La | TN | 93 | SL | 8017 | 05/03/1972 | Nam | BUON BAN | KINH |
| 269 | Son La | TN | 97 | SL | 8018 | 28/12/1992 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 270 | Son La | TN | 85 | SL | 8019 | 10/08/1963 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 271 | Son La | TN | 86 | SL | 8020 | 01/03/1975 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 272 | Son La | TN | 84 | SL | 8021 | 10/10/1972 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 273 | Son La | TN | 92 | SL | 8022 | 17/10/2012 | Nam | TRE EM | KINH |
| 274 | Son La | TN | 71 | SL | 8023 | 10/03/2002 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 275 | Son La | TN | 87 | SL | 8024 | 07/10/1991 | Nam | NHAN VIEN | KINH |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|--------|-------|-----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | | | | | | | | |
| 276 | Son La | TN | 91 | SL | 8040 | 17/06/2010 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 277 | Son La | NH | 90 | SL | 8041 | 17/01/2016 | Nam | TRE EM | THAI |
| 278 | Son La | TN | 88 | SL | 8042 | 01/01/1992 | Nam | NONG DAN | H'ONG |
| 279 | Son La | NH | 95 | SL | 8043 | 16/01/2018 | Nam | TRE EM | H'MONG |
| 280 | Son La | NH | 94 | SL | 8044 | 22/04/2018 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 281 | Son La | 99 | 999 | SL | 8045 | 15/07/2009 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 282 | Son La | 99 | 999 | SL | 8046 | 22/02/1973 | Nam | CAN BO | THAI |
| 283 | Son La | 99 | 999 | SL | 8047 | | Nam | NONG DAN | THAI |
| 284 | Son La | 99 | 999 | SL | 8048 | 20/08/1989 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 285 | Son La | TN | 101 | SL | 8049 | 17/01/2001 | Nam | Hoc sinh | H'MONG |
| 286 | Son La | 99 | 999 | SL | 8050 | 05/06/1995 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 287 | Son La | 99 | 999 | SL | 8051 | 10/08/1985 | Nữ | CAN BO | KINH |
| 288 | Son La | TN | 98 | SL | 8052 | 01/03/2004 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 289 | Son La | 99 | 999 | SL | 8053 | 19/09/1979 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 290 | Son La | 99 | 999 | SL | 8054 | 30/07/2007 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 291 | Son La | TN | 100 | SL | 8055 | 01/05/2007 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 292 | Son La | TN | 99 | SL | 8056 | 28/12/2012 | Nam | TRE EM | THAI |
| 293 | Son La | TN | 113 | SL | 8074 | 21/01/1988 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 294 | Son La | 99 | 999 | SL | 8075 | 03/05/2009 | Nam | HOC SINH | KINH |
| 295 | Son La | TN | 111 | SL | 8076 | 01/01/1995 | Nữ | TU DO | KINH |
| 296 | Son La | NH | 109 | SL | 8077 | 30/01/2018 | Nữ | CON NHO | H'MONG |
| 297 | Son La | TN | 122 | SL | 8078 | 09/11/1998 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 298 | Son La | TN | 121 | SL | 8079 | 18/05/1994 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 299 | Son La | NH | 116 | SL | 8080 | 19/10/2017 | Nam | TRE EM | H'MONG |
| 300 | Son La | NH | 120 | SL | 8081 | 27/11/2017 | Nữ | TRE EM | THAI |
| 301 | Son La | NH | 112 | SL | 8082 | 15/09/2013 | Nam | TRE EM | THAI |
| 302 | Son La | NH | 110 | SL | 8083 | 01/01/2011 | Nam | HOC SINH | KINH |
| 303 | Son La | TN | 117 | SL | 8084 | 13/12/1986 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 304 | Son La | 99 | 999 | SL | 8085 | 10/05/1980 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 305 | Son La | NH | 118 | SL | 8086 | 21/06/2013 | Nữ | TRE EM | KINH |
| 306 | Son La | TN | 119 | SL | 8087 | 28/02/1992 | Nam | NONG DAN | DAO |
| 307 | Son La | NH | 129 | SL | 8088 | 03/02/2014 | Nam | TRE EM | THAI |
| 308 | Son La | TN | 126 | SL | 8089 | 21/04/2010 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 309 | Son La | TN | 142 | SL | 8090 | 20/07/2014 | Nữ | TRE EM | THAI |
| 310 | Son La | TN | 127 | SL | 8091 | 13/03/1969 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 311 | Son La | TN | 160 | SL | 8132 | 11/11/2010 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 312 | Son La | NH | 161 | SL | 8133 | 16/04/2014 | Nam | TRE NHO | THAI |
| 313 | Son La | TN | 157 | SL | 8134 | 29/05/2009 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 314 | Son La | TN | 170 | SL | 8135 | 01/01/1967 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 315 | Son La | 99 | 999 | SL | 8136 | 17/03/1984 | Nữ | NONG DAN | THAI |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|--------|-------|-----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | NH | SL | SL | 8137 | | | | |
| 316 | Son La | NH | 133 | SL | 8137 | 17/01/2018 | Nam | TRE EM | MONG |
| 317 | Son La | NH | 173 | SL | 8138 | 10/03/2018 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 318 | Son La | TN | 158 | SL | 8139 | 15/08/2002 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 319 | Son La | TN | 189 | SL | 8140 | 31/10/2008 | Nam | HOC SINH | KINH |
| 320 | Son La | NH | 143 | SL | 8141 | 24/01/2015 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 321 | Son La | TN | 130 | SL | 8142 | 17/07/2009 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 322 | Son La | TN | 131 | SL | 8143 | 24/04/2006 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 323 | Son La | TN | 135 | SL | 8144 | 09/11/2010 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 324 | Son La | TN | 141 | SL | 8145 | 15/12/1988 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 325 | Son La | 99 | 999 | SL | 8146 | 10/07/1989 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 326 | Son La | TN | 136 | SL | 8147 | 11/11/1980 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 327 | Son La | TN | 140 | SL | 8148 | 17/09/1991 | Nam | KHONG CO | KINH |
| 328 | Son La | 99 | 999 | SL | 8149 | 11/08/2003 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 329 | Son La | TN | 134 | SL | 8150 | 10/12/1970 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 330 | Son La | TN | 137 | SL | 8151 | 04/03/1985 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 331 | Son La | NH | 123 | SL | 8152 | 01/01/2017 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 332 | Son La | NH | 128 | SL | 8153 | 18/10/2017 | Nam | TRE EM | THAI |
| 333 | Son La | TN | 132 | SL | 8154 | 20/10/2003 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 334 | Son La | TN | 138 | SL | 8155 | 01/01/2011 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 335 | Son La | TN | 139 | SL | 8156 | 19/01/1991 | Nữ | NONG DAN | KINH |
| 336 | Son La | TN | 124 | SL | 8157 | 01/01/2003 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 337 | Son La | TN | 125 | SL | 8158 | 13/05/1977 | Nam | KHONG CO | THAI |
| 338 | Son La | 99 | 999 | SL | 8159 | 30/04/1998 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 339 | Son La | TN | 152 | SL | 8185 | 01/01/2002 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 340 | Son La | TN | 208 | SL | 8186 | 29/01/2007 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 341 | Son La | TN | 155 | SL | 8187 | 12/09/1992 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 342 | Son La | NH | 114 | SL | 8188 | 01/04/2014 | Nữ | TRE EM | THAI |
| 343 | Son La | TN | 154 | SL | 8189 | 04/08/1990 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 344 | Son La | TN | 163 | SL | 8190 | 26/08/2002 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 345 | Son La | TN | 162 | SL | 8191 | 01/11/2007 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 346 | Son La | 99 | 999 | SL | 8192 | 22/03/1989 | Nam | CONG NHAN | THAI |
| 347 | Son La | TN | 156 | SL | 8200 | 07/10/2010 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 348 | Son La | TN | 166 | SL | 8201 | 20/10/1962 | Nữ | HUU TRI | KINH |
| 349 | Son La | TN | 168 | SL | 8202 | 15/12/2003 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 350 | Son La | TN | 146 | SL | 8203 | 12/10/2011 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 351 | Son La | TN | 167 | SL | 8204 | 29/03/1999 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 352 | Son La | TN | 165 | SL | 8205 | 15/01/1992 | Nữ | NONG DAN | KINH |
| 353 | Son La | NH | 164 | SL | 8206 | 22/05/2016 | Nam | TRE EM | THAI |
| 354 | Son La | NH | 144 | SL | 8207 | 23/08/2018 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 355 | Son La | 99 | 999 | SL | 8208 | 20/08/1966 | Nam | NONG DAN | THAI |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|--------|-------|-----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | | | | | | | | |
| 356 | Son La | 99 | 999 | SL | 8209 | 08/12/2009 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 357 | Son La | | | SL | 8210 | 08/03/2005 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 358 | Son La | TN | 148 | SL | 8211 | 25/06/1990 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 359 | Son La | TN | 147 | SL | 8212 | 01/01/1964 | Nam | KHONG GHI | THAI |
| 360 | Son La | TN | 150 | SL | 8213 | 01/01/1965 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 361 | Son La | TN | 151 | SL | 8214 | 03/08/1994 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 362 | Son La | TN | 149 | SL | 8215 | 10/05/2007 | Nam | HOC SINH | KINH |
| 363 | Son La | NH | 145 | SL | 8216 | 18/11/2017 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 364 | Son La | TN | 192 | SL | 8217 | 01/07/1998 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 365 | Son La | TN | 186 | SL | 8218 | 11/01/1994 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 366 | Son La | TN | 202 | SL | 8219 | 07/02/1992 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 367 | Son La | TN | 203 | SL | 8220 | 15/05/1975 | Nam | CAN BO | THAI |
| 368 | Son La | 99 | 999 | SL | 8221 | 25/04/2009 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 369 | Son La | 99 | 999 | SL | 8222 | 03/06/1992 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 370 | Son La | TN | 207 | SL | 8223 | 09/10/1993 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 371 | Son La | 99 | 999 | SL | 8242 | 23/07/2018 | Nam | TRE EM | THAI |
| 372 | Son La | TN | 187 | SL | 8249 | 15/07/1976 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 373 | Son La | 99 | 999 | SL | 8250 | 01/01/1994 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 374 | Son La | TN | 184 | SL | 8251 | 12/01/1996 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 375 | Son La | TN | 185 | SL | 8252 | 01/01/1997 | Nam | SINH VIEN | KINH |
| 376 | Son La | NH | 191 | SL | 8253 | 20/01/2013 | Nam | TRE EM | THAI |
| 377 | Son La | TN | 204 | SL | 8254 | 01/01/1965 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 378 | Son La | TN | 182 | SL | 8255 | 23/10/1990 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 379 | Son La | TN | 201 | SL | 8256 | 25/09/1986 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 380 | Son La | TN | 205 | SL | 8257 | 05/06/1957 | Nam | NONG DAN | H'MONG |
| 381 | Son La | TN | 179 | SL | 8258 | 18/01/1977 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 382 | Son La | TN | 188 | SL | 8259 | 21/02/2005 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 383 | Son La | TN | 200 | SL | 8260 | 02/12/1969 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 384 | Son La | TN | 181 | SL | 8261 | 09/12/1973 | Nữ | VIEN CHUC | KINH |
| 385 | Son La | TN | 183 | SL | 8262 | 10/10/1992 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 386 | Son La | TN | 180 | SL | 8263 | 03/05/2011 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 387 | Son La | TN | 189 | SL | 8264 | 17/11/2007 | Nam | HOC SINH | KINH |
| 388 | Son La | TN | 174 | SL | 8265 | 16/03/2010 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 389 | Son La | 99 | 999 | SL | 8266 | | Nam | NONG DAN | THAI |
| 390 | Son La | TN | 177 | SL | 8291 | 11/07/1993 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 391 | Son La | 99 | 999 | SL | 8292 | 05/05/2004 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 392 | Son La | TN | 197 | SL | 8293 | 31/12/2011 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 393 | Son La | TN | 196 | SL | 8294 | 01/01/1979 | Nữ | NONG DAN | H'MONG |
| 394 | Son La | NH | 221 | SL | 8295 | 01/09/2014 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 395 | Son La | 99 | 999 | SL | 8296 | 14/12/1994 | Nữ | NONG DAN | THAI |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|--------|-------|-----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | TN | 199 | SL | 8297 | | | | |
| 396 | Son La | TN | 199 | SL | 8297 | 03/03/2004 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 397 | Son La | 99 | 999 | SL | 8298 | 01/12/1966 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 398 | Son La | TN | 194 | SL | 8299 | 26/04/2007 | Nam | HOC SINH | KINH |
| 399 | Son La | 99 | 999 | SL | 8300 | 04/10/2007 | Nữ | HOC SINH | KINH |
| 400 | Son La | TN | 193 | SL | 8301 | 01/01/1988 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 401 | Son La | TN | 195 | SL | 8302 | 05/08/2007 | Nữ | HOC SINH | H'MONG |
| 402 | Son La | TN | 198 | SL | 8303 | 19/10/1990 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 403 | Son La | TN | 178 | SL | 8304 | 29/09/2010 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 404 | Son La | 99 | 999 | SL | 8305 | 10/11/1986 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 405 | Son La | 99 | 999 | SL | 8306 | 20/06/1984 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 406 | Son La | TN | 215 | SL | 8307 | 10/08/1989 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 407 | Son La | 99 | 999 | SL | 8308 | 15/02/2017 | Nam | TRE EM | MONG |
| 408 | Son La | 99 | 999 | SL | 8309 | 28/12/2004 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 409 | Son La | TN | 211 | SL | 8319 | 26/11/2005 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 410 | Son La | 99 | 999 | SL | 8320 | 01/12/1974 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 411 | Son La | TN | 210 | SL | 8321 | 01/01/1981 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 412 | Son La | 99 | 999 | SL | 8322 | 06/04/1986 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 413 | Son La | TN | 224 | SL | 8323 | 24/09/1992 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 414 | Son La | TN | 223 | SL | 8324 | 15/02/2001 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 415 | Son La | 99 | 999 | SL | 8325 | 26/03/2005 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 416 | Son La | TN | 228 | SL | 8326 | 04/03/2009 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 417 | Son La | 99 | 999 | SL | 8344 | 29/01/2008 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 418 | Son La | TN | 226 | SL | 8345 | 31/12/1970 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 419 | Son La | | | SL | 8346 | 12/07/2006 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 420 | Son La | 99 | 999 | SL | 8347 | 13/03/2018 | Nữ | TRE EM | MONG |
| 421 | Son La | TN | 220 | SL | 8348 | 06/06/2015 | Nữ | TRE EM | THAI |
| 422 | Son La | TN | 219 | SL | 8349 | 01/01/1991 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 423 | Son La | TN | 217 | SL | 8350 | 10/04/1989 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 424 | Son La | 99 | 999 | SL | 8351 | 20/12/1980 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 425 | Son La | 99 | 999 | SL | 8352 | 18/06/1977 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 426 | Son La | 99 | 999 | SL | 8353 | 01/01/2018 | Nữ | NGHI HUU | THAI |
| 427 | Son La | 99 | 999 | SL | 8371 | 15/09/1962 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 428 | Son La | TN | 225 | SL | 8372 | 04/03/2009 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 429 | Son La | TN | 222 | SL | 8373 | 28/11/2012 | Nữ | TRE EM | H'MONG |
| 430 | Son La | 99 | 999 | SL | 8374 | 10/04/1965 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 431 | Son La | TN | 231 | SL | 8375 | 05/06/1964 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 432 | Son La | | | SL | 8388 | | Nữ | TRE NHO | THAI |
| 433 | Son La | 99 | 999 | SL | 8389 | 19/09/2018 | Nam | TRE EM | THAI |
| 434 | Son La | TN | 230 | SL | 8390 | 28/09/1990 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 435 | Son La | 99 | 999 | SL | 8391 | 06/12/2006 | Nữ | HOC SINH | THAI |

| TT | Tỉnh | Mã BN | | | | Ngày sinh | Giới tính | Nghề nghiệp | Dân tộc |
|-----|--------|-------|-----|----|------|------------|-----------|-------------|---------|
| | | | | | | | | | |
| 436 | Son La | 99 | 999 | SL | 8392 | 10/10/1988 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 437 | Son La | 99 | 999 | SL | 8393 | 02/09/1973 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 438 | Son La | 99 | 999 | SL | 8394 | 26/03/2012 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 439 | Son La | NH | 229 | SL | 8395 | 18/04/2018 | Nam | TRE EM | H'MONG |
| 440 | Son La | 99 | 999 | SL | 8396 | 01/01/1979 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 441 | Son La | TN | 236 | SL | 8397 | 14/05/1988 | Nữ | NONG DAN | H'MONG |
| 442 | Son La | TN | 237 | SL | 8398 | 13/12/2009 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 443 | Son La | 99 | 999 | SL | 8399 | 16/02/1987 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 444 | Son La | NH | 235 | SL | 8400 | 24/06/2016 | Nam | TRE EM | KINH |
| 445 | Son La | TN | 232 | SL | 8401 | 01/01/2001 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 446 | Son La | TW | 240 | SL | 8402 | 10/10/1967 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 447 | Son La | 99 | 999 | SL | 8403 | 17/03/1996 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 448 | Son La | TN | 234 | SL | 8404 | 28/06/2003 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 449 | Son La | TN | 233 | SL | 8405 | 24/02/2014 | Nam | TRE EM | THAI |
| 450 | Son La | 99 | 999 | SL | 8406 | 19/05/2018 | Nam | TRE EM | MONG |
| 451 | Son La | TN | 243 | SL | 8420 | 09/02/1989 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 452 | Son La | TN | 242 | SL | 8421 | 05/10/1980 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 453 | Son La | TN | 239 | SL | 8422 | 01/01/1975 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 454 | Son La | TN | 245 | SL | 8423 | 08/12/2005 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 455 | Son La | TN | 244 | SL | 8424 | 01/01/1971 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 456 | Son La | NH | 244 | SL | 8425 | 26/10/2017 | Nữ | TRE EM | THAI |
| 457 | Son La | 99 | 999 | SL | 8426 | 05/01/1982 | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 458 | Son La | NH | 241 | SL | 8427 | 25/04/2018 | Nam | TRE EM | H'MONG |
| 459 | Son La | 99 | 999 | SL | 8428 | 23/06/1997 | Nam | KHONG BIET | KINH |
| 460 | Son La | 99 | 999 | SL | 8429 | | Nữ | NONG DAN | THAI |
| 461 | Son La | 99 | 999 | SL | 8430 | 01/01/1970 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 462 | Son La | TN | 246 | SL | 8446 | 15/07/1993 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 463 | Son La | TN | 255 | SL | 8447 | 12/10/2012 | Nam | Hoc sinh | THAI |
| 464 | Son La | 99 | 999 | SL | 8448 | 15/09/2004 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 465 | Son La | 99 | 999 | SL | 8449 | 05/10/2008 | Nam | HOC SINH | THAI |
| 466 | Son La | NH | 249 | SL | 8465 | 01/01/2017 | Nữ | TRE EM | THAI |
| 467 | Son La | 99 | 999 | SL | 8466 | 16/08/2004 | Nữ | HOC SINH | THAI |
| 468 | Son La | TN | 250 | SL | 8467 | 20/02/2015 | Nam | TRE EM | KINH |
| 469 | Son La | TN | 248 | SL | 8468 | 01/01/1991 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 470 | Son La | TN | 247 | SL | 8469 | 01/01/1979 | Nam | NONG DAN | THAI |
| 471 | Son La | TN | 260 | SL | 8475 | 08/10/1966 | Nữ | NONG DAN | H'MONG |
| 472 | Son La | TN | 261 | SL | 8476 | 24/04/2006 | Nữ | Hoc sinh | THAI |
| 473 | Son La | TN | 47 | SL | 7961 | 25/10/2009 | Nam | Hoc sinh | THAI |

Phụ lục 2

CUNG CẤP THÔNG TIN CHO NGƯỜI THAM GIA NGHIÊN CỨU

1. Giới thiệu về đề tài/dự án nghiên cứu:

“Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ và gánh nặng chi phí điều trị của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc Việt Nam, 2017-2018”

2. Mục đích nghiên cứu

Nghiên cứu sẽ giúp hiểu rõ hơn về đặc điểm dịch tễ, căn nguyên và gánh nặng chi phí điều trị Viêm não vi rút của tại 3 tỉnh Điện Biên, Lào Cai và Sơn La năm 2017 – 2018, góp phần cho việc lập kế hoạch, đề xuất các biện pháp phòng chống Viêm não vi rút hiệu quả tại khu vực nghiên cứu.

3. Giới thiệu về cán bộ nghiên cứu:

Cán bộ nghiên cứu là các nghiên cứu viên tại Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương, các cán bộ y tế tại Trung tâm Y tế Dự phòng, Bệnh viện Đa khoa tỉnh, Trung tâm Y tế huyện và Bệnh viện đa khoa các huyện tại Sơn La, Điện Biên và Lào Cai

4. Quy trình thực hiện nghiên cứu:

- Khám, lựa chọn người tham gia theo tiêu chuẩn của nghiên cứu
- Giải thích với người nhà, mời những người đủ tiêu chuẩn tham gia nghiên cứu
- Điều tra bộ câu hỏi và lấy mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm với các tác nhân vi rút gây bệnh viêm não.

5. Những rủi ro có thể xảy ra khi tham gia nghiên cứu:

Việc lấy máu và dịch não tuỷ đều nằm trong quy trình chẩn đoán và điều trị của người bệnh. Mẫu bệnh phẩm đều là những mẫu có sẵn và được chia sẻ từ bệnh viện. Không có thêm bất kỳ rủi ro nào xảy ra với người tham gia nghiên cứu.

6. Những lợi ích khi tham gia nghiên cứu

- Được cán bộ y tế tư vấn về bệnh viêm não và cách phòng chống.
- Được xét nghiệm với các tác nhân vi rút gây bệnh viêm não.

7. Hỗ trợ tham gia nghiên cứu

- Được bồi dưỡng 50.000 đ/ ca

8. Đảm bảo sự bí mật riêng tư của người tham gia nghiên cứu

- Kết quả các thông tin liên quan đến người tham gia nghiên cứu sẽ được mã hoá và đảm bảo sự bí mật riêng tư.
- Các thông tin chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu. Tất cả các thông tin cá nhân về danh tính người tham gia nghiên cứu sẽ được loại bỏ, không đưa vào phần kết quả nghiên cứu.

9. Nghĩa vụ của người tham gia nghiên cứu

- Hợp tác với cán bộ y tế trong việc lấy mẫu phân
- Trả lời các câu hỏi liên quan đến tình trạng người bệnh
- Cung cấp cho cán bộ y tế những tài liệu có liên quan (giấy khai sinh, sổ tiêm chủng)

10. Sự tình nguyện tham gia và rút lui khỏi nghiên cứu

Người tham gia nghiên cứu dựa trên tinh thần tự nguyện, không ép buộc và có thể từ chối tham gia nghiên cứu.

11. Phương thức liên hệ với những tổ chức nghiên cứu

Nếu người tham gia nghiên cứu có những câu hỏi, thắc mắc gì thêm xin liên hệ

- Chủ nhiệm đề tài: PGS. TS. Trần Như Dương – Phó Viện trưởng, Viện Vệ sinh Dịch tễ TƯ (SĐT: 0988761312)
- Thư ký đề tài: Ts. Bs. Ngũ Duy Nghĩa – Phó trưởng khoa Dịch tễ, Viện Vệ sinh Dịch tễ TƯ (SĐT: 0906270275)

12. Những cam kết của nhà nghiên cứu đối với người tham gia nghiên cứu

- Thực hiện đúng theo quy trình của nghiên cứu
- Giải đáp mọi thắc mắc của đối tượng nghiên cứu bất cứ lúc nào.
- Đảm bảo tuyệt đối bí mật các kết quả và thông tin của đối tượng tham gia nghiên cứu.

Hà Nội, ngày tháng năm 2017
Chủ nhiệm đề tài

BẢN THỎA THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU
(Dành cho người bệnh trên 15 tuổi hoặc người nhà/người chăm sóc)

Họ và tên người bệnh:

Ngày sinh:

Địa chỉ:

Tôi được mời tham gia vào nghiên cứu có tên đề tài là:

“Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ và gánh nặng và chi phí điều trị Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc Việt Nam, 2017 – 2018”

Tôi được nhà nghiên cứu cung cấp các thông tin về:

- Mục tiêu nghiên cứu
- Quy trình thực hiện nghiên cứu
- Những lợi ích của nghiên cứu
- Những rủi ro có thể xảy ra khi tham gia nghiên cứu
- Sự đảm bảo sự bí mật riêng tư của đối tượng nghiên cứu
- Sự tình nguyện tham gia và rút lui khỏi nghiên cứu của đối tượng
- Nghĩa vụ của đối tượng khi tham gia vào nghiên cứu
- Giới thiệu về nhà nghiên cứu
- Phương thức liên hệ với nhà nghiên cứu
- Những cam kết của nhà nghiên cứu với đối tượng tham gia nghiên cứu

Sau khi được nghe và đọc các thông tin liên quan đến nghiên cứu như đã được trình bày trong bản thỏa thuận này, tôi hoàn toàn tự nguyện đồng ý tham gia vào nghiên cứu được ghi trong bản thỏa thuận. Tôi xin tuân thủ các quy định của nghiên cứu.

....., ngày.....tháng.....năm 201....

Đối tượng tham gia nghiên cứu
(hoặc người nhà/người chăm sóc)

(Ký và ghi rõ họ tên)

BẢN THỎA THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU

(Dành cho cha mẹ của người bệnh dưới 15 tuổi)

Họ và tên cha/mẹ:

Tuổi:.....

Địa chỉ:.....

Họ và tên trẻ:.....

Ngày sinh:.....

Con tôi được mời tham gia vào nghiên cứu có tên đề tài là :

“Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ và gánh nặng và chi phí điều trị Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc Việt Nam, 2017 – 2018”

Tôi được nhà nghiên cứu cung cấp các thông tin về:

- Mục tiêu nghiên cứu
- Quy trình thực hiện nghiên cứu
- Những lợi ích của nghiên cứu
- Những rủi ro có thể xảy ra khi tham gia nghiên cứu
- Sự đảm bảo sự bí mật riêng tư của đối tượng nghiên cứu
- Sự tình nguyện tham gia và rút lui khỏi nghiên cứu của đối tượng
- Nghĩa vụ của đối tượng khi tham gia vào nghiên cứu
- Giới thiệu về nhà nghiên cứu và phương thức liên hệ với nhà nghiên cứu
- Những cam kết của nhà nghiên cứu với đối tượng tham gia nghiên cứu

Sau khi được nghe và đọc các thông tin liên quan đến nghiên cứu như đã được trình bày trong bản thỏa thuận này, tôi hoàn toàn tự nguyện đồng ý cho con tôi tham gia vào nghiên cứu được ghi trong bản thỏa thuận. Tôi xin tuân thủ các quy định của nghiên cứu.

....., ngày.....tháng.....năm 201....

Cha/mẹ của đối tượng tham gia nghiên cứu

(Ký và ghi rõ họ tên)

Phụ lục 3

PHIẾU ĐIỀU TRA VIÊM NÃO VI RÚT
Khu vực Tây Bắc, 2017 -2018

Người bệnh được chọn vào nghiên cứu phải có đủ tiêu chuẩn sau đây:

- Sốt > 380C (trong vòng 72 giờ trước hoặc sau khi khởi phát)
- Rối loạn tri giác (nhầm lẫn, mất định hướng, không nói được, lơ mơ, hôn mê) hoặc rối loạn vận động (co giật, co cứng, cử động bất thường, liệt).
- Dịch não tủy trong, tăng tế bào bạch cầu và chủ yếu là tế bào lympho trong dịch não tủy.
- Xét nghiệm máu bạch cầu không tăng hoặc tăng ít.

A. HÀNH CHÍNH

A01. Họ và tên: _____

A02 Ngày tháng năm sinh _____ / _____ / _____ Tuổi: _____

A03. Giới tính: [1] Nam [2] Nữ

A04. Nghề nghiệp

A05. Dân tộc

A07. Họ tên người trả lời câu hỏi:

A08.a. Quan hệ của người trả lời câu hỏi:

₁ Bố/Mẹ ₂ Ông/bà ₃ Anh/chị em
ruột ₄ Người khác

A08.b. Nếu là người khác nêu rõ là ai:

A09. Địa chỉ: a. Số nhà, đường

b. Thôn, xóm, khu phố, tổ dân phố:

c. Xã/Phường:

d. Quận/Huyện:

e. Tỉnh/thành phố: _____

A06. Điện thoại liên lạc:

- A10. Họ tên điều tra viên:
- A11. Chữ ký điều tra viên:
- A12. Ngày điều tra:/...../201....

| B. THÔNG TIN VỀ PHỐI NHIỄM | | | | |
|--|--|--------------------------------------|---|------------|
| Mã | Câu hỏi | Câu trả lời | | Chuyể n |
| 1. Thông tin chung về hộ gia đình và điều kiện sống | | | | |
| B1 | Khu vực Anh/chị sinh sống? | Đồng bằng | 1 | |
| | | Trung du | 2 | |
| | | Vùng đồi | 3 | |
| | | Vùng núi | 4 | |
| B2 | Trình độ học vấn? | Mù chữ | 1 | |
| | | Tiểu học | 2 | |
| | | THCS | 3 | |
| | | THPT/Bổ túc | 4 | |
| | | Đại học/Cao đẳng/Trung cấp | 5 | |
| | Sau đại học | 6 | | |
| B3 | Tổng số thành viên trong gia đình? | _ _ _ | | |
| B4 | Tổng số trẻ trong gia đình? | _ _ _ | | |
| B5 | Người bệnh đã được tiêm vắc xin phòng bệnh Viêm não Nhật Bản chưa? | Có | 1 | |
| | | Không | 2 | B8 |
| | | Không rõ | 9 | B8 |
| B6 | Số liều đã tiêm? | _ _ _ | | |
| B7 | Ngày tiêm liều cuối cùng? | ____//____//____ (ngày/tháng/năm) | | |
| B8 | Gia đình anh/chị có nuôi lợn không? | Có | 1 | |
| | | Không | 2 | |
| | | Không biết | 9 | |
| B9 | Khoảng cách từ chuồng lợn tới nơi ở của hộ gia đình? | _____mét | | |
| B10 | Khoảng cách từ nhà anh/chị tới ruộng gần nhất là bao nhiêu? | _____mét | | |

| B11 | Gia đình anh chị có trồng cây ăn quả như vải, nhãn, bưởi ... | Có | 1 | |
|------------------------------|--|--------------------------------------|---|--------|
| | | Không | 2 | |
| | | Không biết | 9 | |
| B12 | Khoảng cách từ vườn cây ăn quả tới nơi ở của hộ gia đình? | _____ mét | | |
| C. THÔNG TIN LÂM SÀNG | | | | |
| Mã | Câu hỏi | Câu trả lời | | Chuyển |
| C1 | Ngày khởi phát? (Ghi 99/99/99 nếu không biết) | ____//____//____ (ngày/tháng/năm) | | |
| C2 | Ngày nhập viện? (Ghi 99/99/99 nếu không biết) | ____//____//____ (ngày/tháng/năm) | | |
| C3 | Nhiệt độ cao nhất (độ C)? | _ _ _ | | |
| C4 | Rối loạn tri giác (<i>nhầm lẫn, mất định hướng, không nói được, lơ mơ, hôn mê</i>) | Có | 1 | |
| | | Không | 2 | |
| | | Không rõ | 9 | |
| C5 | Rối loạn vận động (<i>co giật, co cứng, cử động bất thường, liệt</i>) | Có | 1 | |
| | | Không | 2 | |
| | | Không rõ | 9 | |
| C6 | Chẩn đoán cuối cùng? | _____ | | |
| C7 | Ngày ra viện? (Ghi 99/99/99 nếu không biết) | ____//____//____ (ngày/tháng/năm) | | |
| C8 | Kết quả điều trị? | Khỏi, ra viện | 1 | |
| | | Di chứng | 3 | |
| | | Chết | 4 | |
| C9 | Nếu Tử vong, ghi rõ nguyên nhân? | _____ | | |
| C10 | Ngày tử vong? (Ghi 99/99/99 nếu không biết) | ____//____//____ (ngày/tháng/năm) | | |

| | | | | |
|-----|----------------------------|---------------------|---|--|
| C11 | Nếu có Di chứng, loại nào? | Di chứng TK sợ | 1 | |
| | | Giảm vận động | 2 | |
| | | Giảm cảm giác | 3 | |
| | | Động kinh | 4 | |
| | | Rối loạn tâm thần | 5 | |
| | | Khác _____ _____ | 6 | |

Cảm ơn và Kết thúc phỏng vấn !

Phụ lục 4:**QUY TRÌNH TUYỂN CHỌN ĐIỀU TRA, LẤY MẪU BỆNH NHÂN VIÊM NÃO VIRÚT
TẠI SƠN LA, ĐIỆN BIÊN VÀ LÀO CAI, 2017-2018****I. Thời gian thực hiện: 2017 - 2018****II. Địa điểm: tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai****(*) Tuyển tỉnh:**

Tại các khoa: Khoa Truyền nhiễm, Khoa Điều trị tích cực, Khoa Nhi, Khoa Thần Kinh

- Bệnh viện đa khoa tỉnh Sơn La
- Bệnh viện đa khoa tỉnh Điện Biên
- Bệnh viện đa khoa tỉnh Lào Cai
- Bệnh viện sản nhi tỉnh Lào Cai

(*) Tuyển huyện:

Các bệnh viện đa khoa tuyển huyện tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai.

- **Tỉnh Sơn La**
 - Bệnh viện đa khoa TP Sơn La
 - Bệnh viện đa khoa huyện Sốp Cộp
 - Bệnh viện đa khoa huyện Mai Sơn
 - Bệnh viện đa khoa huyện Thuận Châu
 - Bệnh viện đa khoa huyện Sông Mã
 - Bệnh viện đa khoa huyện Quỳnh Nhai
 - Bệnh viện đa khoa huyện Mường La
 - Bệnh viện đa khoa huyện Bắc Yên
 - Bệnh viện đa khoa huyện Yên Châu
 - Bệnh viện đa khoa huyện Mộc Châu
 - Bệnh viện đa khoa huyện Phù Yên
 - Bệnh viện đa khoa huyện Vân Hồ
- **Tỉnh Điện Biên**
 - Bệnh viện đa khoa huyện Mường Chà

- Bệnh viện đa khoa huyện Điện Biên Đông
 - Bệnh viện đa khoa huyện Nậm Pồ
 - Bệnh viện đa khoa huyện Mường Ảng
 - Bệnh viện đa khoa huyện Điện Biên
 - Bệnh viện đa khoa TP Điện Biên Phủ
 - Bệnh viện đa khoa huyện Tủa Chùa
 - Bệnh viện đa khoa huyện Mường Nhé
 - Bệnh viện đa khoa huyện Tuần Giáo
 - Bệnh viện đa khoa thị xã Mường Lay
- **Tỉnh Lào Cai**
- Bệnh viện đa khoa thị xã Sa Pa
 - Bệnh viện đa khoa huyện Bảo Yên
 - Bệnh viện đa khoa huyện Bảo Thắng
 - Bệnh viện đa khoa huyện Văn Bàn
 - Bệnh viện đa khoa huyện Bát Xát
 - Bệnh viện đa khoa huyện Mường Khương
 - Bệnh viện đa khoa huyện Bắc Hà
 - Bệnh viện đa khoa TP Lào Cai
 - Bệnh viện đa khoa huyện Si Ma Cai

III. Mục tiêu

Mục tiêu chung

Đánh giá, phân tích tình hình Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lào Cai nhằm xây dựng chiến lược và kế hoạch phòng chống dịch trong thời gian tới ở Tây Bắc.

Mục tiêu cụ thể

1. *Mô tả một số yếu tố liên quan của Viêm não vi rút tại 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018.*
2. *Xác định một số tác nhân vi rút phổ biến gây viêm não tại các cơ sở Y tế 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018.*

3. *Xác định sự có mặt của muỗi truyền bệnh VNNB tại khu vực nghiên cứu.*
4. *Mô tả chi phí điều trị trực tiếp liên quan đến y tế người bệnh Viêm não vi rút tại cơ sở điều trị có kiểm soát 3 tỉnh Tây Bắc: Sơn La, Điện Biên và Lào Cai, 2017-2018.*

IV. Đối tượng giám sát:

1. Tiêu chuẩn lựa chọn ca bệnh

Định nghĩa ca bệnh giám sát: là những ca Viêm não vi rút được điều trị tại Bệnh viện đa khoa tỉnh/huyện và trạm y tế xã theo tiêu chuẩn như sau :

- Sốt > 38 độ C (trong vòng 72 giờ trước hoặc sau khi khởi phát)
- Rối loạn tri giác (nhầm lẫn, mất định hướng, không nói được, lơ mơ, hôn mê) hoặc rối loạn vận động (co giật, co cứng, cử động bất thường, liệt).
- Trên lâm sàng hướng tới viêm não do vi rút.
- Tiêu chuẩn loại trừ viêm não do vi khuẩn và ký sinh trùng: dựa vào các kết quả xét nghiệm cận lâm sàng của dịch não tủy và sinh hóa như: dịch não tủy trong; kết quả xét nghiệm công thức máu bạch cầu ưa a xít không tăng và bạch cầu đa nhân trung tính không tăng.

2. Quy trình tuyển chọn, điều tra lấy mẫu VNVR

Thiết lập các điểm giám sát Viêm não vi rút tại bệnh viện đa khoa tỉnh (tại các khoa Truyền nhiễm, Nhi, Điều trị tích cực, Thần kinh), Bệnh viện huyện. Khi có người bệnh phù hợp với định nghĩa ca bệnh, thực hiện như sau:

Bước 1 : Xác định ca bệnh giám sát và lấy mẫu bệnh phẩm

Bác sĩ tại các Bệnh viện khi thăm khám, điều trị người bệnh phát hiện được ca bệnh nghi ngờ Viêm não vi rút sẽ thông báo ngay cho cán bộ đầu mối của TTYTDP tỉnh, đưa người bệnh vào diện giám sát và lập mã số để theo dõi như sau:

- Mỗi người bệnh sẽ có 1 mã số riêng biệt, không trùng lặp. Các mã số này đều giống nhau giữa phiếu điều tra ca bệnh và các tuýp đựng mẫu bệnh phẩm.

▪ **Cách đánh mã số:**

Mã số người bệnh: *VN-01-SL-TK-001, VN-02-ĐB-TK-001* trong đó

- ✓ **VN:** Viết tắt của chương trình Viêm não vi rút.
- ✓ **01:** Mã số tỉnh nghiên cứu; trong đó 01 tỉnh Sơn La; 02 tỉnh Điện Biên; 03 tỉnh Lào Cai.
- ✓ **SL:** mã số đơn vị tuyển chọn tại BV tỉnh và huyện; đối với 3 bệnh viện tỉnh mã số BV tỉnh Sơn La là SL; Điện Biên là ĐB; Lào Cai là LC.

Đối với các bệnh viện tuyến huyện: mã của các Bệnh viện bao gồm chữ H và viết tắt các chữ cái đầu của tên Bệnh Viện. ví dụ: HMC trong đó H là viết tắt của huyện và MC là 2 chữ cái của huyện Mai Châu.

- ✓ **TK:** Viết tắt chữ cái của khoa thần kinh; TN đối với khoa Truyền Nhiễm; TC: đối với khoa Điều trị tích cực và NH đối với khoa Nhi.
 - ✓ **001:** Số thứ tự của các ca bệnh được điều tra.
- Sau khi lập mã số theo dõi cho người bệnh, bác sĩ/nhân viên Y tế tại khoa phòng điều trị sẽ thực hiện lấy mẫu bệnh phẩm theo đúng hướng dẫn lấy mẫu, bảo quản vận chuyển bệnh phẩm giám sát VNVR; Mỗi một người bệnh cần thu thập 3 loại mẫu bệnh phẩm bao gồm: 1 mẫu Dịch não tủy, 1 mẫu máu và 1 mẫu phân. Các mẫu này được bảo quản vào các ống đựng bệnh phẩm khác nhau.
- Loại mẫu, số lượng và thời gian lấy mẫu:

| Stt | Loại bệnh phẩm | Thời điểm lấy mẫu | Đối tượng trên 1 tuổi | Trẻ em dưới 1 tuổi |
|-----|---------------------|--|-----------------------|--------------------|
| 1 | Dịch não tủy | Lúc nhập viện (hoặc trong vòng 5 ngày sau nhập viện) | 2 ml | 1 ml |
| 2 | Mẫu phân | | 1 ống (2 gam) | 1 ống (2 gam) |
| 3 | Mẫu máu | 7 ngày sau nhập viện hoặc trước khi ra viện | 5 ml | 3 ml |

Bước 2: Thực hiện điều tra thông tin ca bệnh

- Sau khi nhận thông tin ca bệnh từ Bệnh viện, cán bộ TTYTDP sang điều tra ca bệnh theo phiếu điều tra ca bệnh và biểu mẫu điều tra chi phí điều trị được in sẵn.

Bước 3: Bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Việc bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm sẽ thực hiện theo quy trình lấy mẫu, bảo quản bệnh phẩm.
- Các bệnh phẩm sau khi được thu thập được bảo quản tại khoa vi sinh tại Bệnh viện tỉnh.
- Việc vận chuyển từ Bệnh viện về TTYTDP tỉnh và từ TTYTDP tỉnh về Viện VSDTTU do TTYTDP tỉnh đảm nhiệm.
- Trung tâm YTDP tỉnh định kỳ hàng tuần gửi mẫu bệnh phẩm và phiếu điều tra ca bệnh về Viện VSDTTU vào thứ 3 hàng tuần.
- Đối với các ca điều tra, lấy mẫu tại Bệnh viện huyện : Việc vận chuyển Phiếu điều tra và bệnh phẩm từ các bệnh viện huyện sẽ do TTYTDP huyện vận chuyển sớm nhất có thể (tối đa trong vòng 2 tuần kể từ khi lấy mẫu) về TTYTDP tỉnh bảo quản theo đúng quy định.

Bước 4: Giám sát và thông tin báo cáo

- Hàng tuần cán bộ TTYTDP tỉnh có trách nhiệm giám sát hỗ trợ tại Bệnh viện, đảm bảo việc tuyển chọn ca bệnh và lấy mẫu bệnh phẩm được thực hiện đúng quy trình.
- Cán bộ TTYTDP tỉnh có trách nhiệm đảm bảo chất lượng của bệnh phẩm cũng như các biểu mẫu điều tra trước khi vận chuyển về Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương.
- Hàng tuần Trung tâm Y tế Dự phòng tỉnh gửi danh sách các ca được điều tra lấy mẫu qua email về Khoa Dịch tễ Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương theo địa chỉ gsbenh@gmail.com vào thứ 3 của tuần kế tiếp.

- Các vật tư tiêu hao (bơm kim tiêm, tuýp đựng mẫu, hộp vận chuyển...), biểu mẫu, sổ sách, phiếu điều tra cho hoạt động sẽ do Viện VSDT TƯ cung cấp.

Phụ lục 5:**QUY TRÌNH LẤY MẪU, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN BỆNH PHẨM
NHIỄM VIÊM NÃO VI RÚT****Tiêu chuẩn lựa chọn người bệnh giám sát:**

- Sốt > 38°C (trong vòng 72 giờ trước hoặc sau khi khởi phát) và một hoặc những triệu chứng sau:

+ Rối loạn tri giác (bao gồm các dấu hiệu như nhầm lẫn, mất phương hướng, hôn mê hoặc khả năng nói bị thay đổi)

+ Rối loạn vận động (co giật, co cứng, cử động bất thường, liệt)

- Chẩn đoán lâm sàng hướng tới nguyên nhân Viêm não vi rút.

1. Mục đích

Hướng dẫn thu thập, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm đến cơ sở xét nghiệm đảm bảo chất lượng và an toàn.

2. Phạm vi áp dụng

Các Bệnh viện, Trung tâm Y tế Dự phòng Tỉnh và các phòng thí nghiệm thuộc Khoa Vi rút - Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương.

3. Trách nhiệm

Cán bộ thực hiện lấy mẫu phải tuân thủ đúng quy trình lấy mẫu

4. Các loại bệnh phẩm

| Stt | Loại bệnh phẩm | Thời điểm lấy mẫu | Đối tượng trên 1 tuổi | Trẻ em dưới 1 tuổi |
|-----|----------------|--|-----------------------|--------------------|
| 1 | Dịch não tủy | Lúc nhập viện | 2 ml | 1 ml |
| 2 | Mẫu phân | (hoặc trong vòng 5 ngày từ khi xuất hiện triệu chứng lâm sàng) | 2 gam | 2 gam |
| 3 | Mẫu máu | 7 ngày sau nhập viện hoặc trước khi ra viện | 5 ml | 3 ml |

5. Nguyên vật liệu và trang thiết bị

- Túi/hộp cho đóng gói ống bệnh phẩm
- Băng, gạc có tẩm chất sát trùng
- Găng tay, khẩu trang y tế
- Bình lạnh bảo quản mẫu, túi lạnh giữ nhiệt
- Cồn sát trùng, bút ghi...
- Biểu mẫu điền thông tin người bệnh (phiếu yêu cầu xét nghiệm và phiếu điều tra dịch tễ)

5.1. Dụng cụ lấy mẫu dịch não tủy

- Kim chuyên dùng chọc dịch não tủy
- Ống đựng mẫu 2 ml

5.2. Dụng cụ lấy mẫu máu

- Dây garo
- Ống đựng máu vô trùng (không có chất chống đông) và bơm kim tiêm vô trùng 5ml

5.3. Dụng cụ lấy mẫu phân

- Lọ đựng phân có nắp đậy chặt, miệng rộng
- Ống thông trực tràng (khi cần thiết)

6. Các bước tiến hành

6.1. Thu thập bệnh phẩm

Các công tác chuẩn bị trước khi lấy mẫu:

- Giải thích cho người bệnh hoặc người nhà người bệnh về mục đích của việc lấy mẫu xét nghiệm
- Ghi đầy đủ thông tin của người bệnh trên phiếu yêu cầu xét nghiệm và phiếu điều tra dịch tễ.
- Chuẩn bị đầy đủ dụng cụ thu thập bệnh phẩm theo loại bệnh phẩm và ghi thông tin nhận dạng ống đựng bệnh phẩm gồm: họ tên người bệnh hoặc mã người bệnh, tuổi và ngày lấy mẫu

- Sử dụng đầy đủ trang bị bảo hộ cá nhân

6.1.1. Bệnh phẩm dịch não tủy

- Thời gian lấy mẫu: lúc nhập viện hoặc trong vòng 1-5 ngày kể từ khi xuất hiện các triệu chứng lâm sàng.
- Lấy mẫu sẽ được bác sĩ chỉ định và thực hiện theo thường quy của đơn vị lấy mẫu, PTN chỉ nhận mẫu và xét nghiệm theo yêu cầu.
- Số lượng mẫu dịch não tủy: 2 ml đối với người bệnh trên 1 tuổi và 1ml với trẻ em dưới 1 tuổi.
- Chuyển mẫu vào tuýp chứa có ghi sẵn thông tin người bệnh, vặn chặt nắp tuýp.

6.1.2. Bệnh phẩm máu

- Thời gian lấy mẫu: 7 ngày kể từ khi xuất hiện các triệu chứng lâm sàng hoặc trước khi người bệnh ra viện.
- Sử dụng bơm kim tiêm vô trùng lấy 5 ml máu tĩnh mạch với người bệnh trên 1 tuổi và lấy 3 ml máu tĩnh mạch đối với trẻ em dưới 1 tuổi
- Chuyển mẫu vào ống lấy máu có ghi sẵn thông tin người bệnh

6.1.3. Bệnh phẩm phân

- Cho người bệnh đi đại tiện vào xô sạch
 - + Nếu phân đặc lấy cục phân bằng đầu ngón tay cái người lớn bằng thìa đã gắn sẵn ở nắp tuýp
 - + Nếu phân lỏng: lấy dung dịch phân bằng ống hút sạch (hoặc bằng bơm tiêm) với thể tích và khối lượng theo yêu cầu.
- Chuyển mẫu phân vào tuýp đã ghi sẵn thông tin người bệnh.
- Vặn chặt nắp tuýp để tránh rò rỉ.

6.2. Bảo quản bệnh phẩm

Các mẫu bệnh phẩm sau khi lấy được bảo quản 2-8°C trong vòng 24 - 48 giờ tại cơ sở lấy mẫu, mẫu được chuyển về TTYTDP tỉnh và bảo quản -20°C trong vòng 2 tuần (chú ý: mẫu máu phải tách huyết thanh trước khi bảo quản -20°C). TTYTDP tỉnh sẽ đóng gói và vận chuyển các mẫu bệnh phẩm về phòng thí nghiệm Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương để làm các xét nghiệm.

Không cất bệnh phẩm tại ngăn đá tủ lạnh thường có thể phá huỷ virút

6.3. Đóng gói bệnh phẩm

- Vận chuyển an toàn mẫu bệnh phẩm đến phòng thí nghiệm đòi hỏi thận trọng trong việc chuẩn bị, đóng gói cũng như vận chuyển bệnh phẩm, tránh những sự cố như đổ vỡ dẫn tới phát tán bệnh dịch.

- Bệnh phẩm thu thập cho chẩn đoán tác nhân gây bệnh được đóng gói theo nguyên tắc 3 lớp:

+ **Lớp thứ 1:** Ống/lọ chứa mẫu trực tiếp

Ống phải chắc chắn và có nắp kín. Đảm bảo nắp ống đựng mẫu không bị kênh khi chứa mẫu và phải có thông tin nhận dạng trên ống (tên, tuổi và ngày lấy mẫu).

+ **Lớp thứ 2:** Hộp nhựa/túi chứa các ống đựng mẫu

Hộp nhựa/túi phải chắc chắn, kín tuyệt đối và có khả năng hấp thụ dung dịch nếu ống mẫu bị đổ/vỡ.

+ **Lớp thứ 3:** Bình tích lạnh hoặc hộp xốp chứa các hộp nhựa/túi có ống mẫu bệnh phẩm.

Khi vận chuyển mẫu phải đảm bảo thùng chứa bệnh phẩm phải được đặt chắc chắn, tránh va đập.

* Tham khảo thêm thông tư 43 về “Quy định chế độ quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm“ 43/2011/TT-BYT

Đảm bảo các thông tin về người bệnh đã được điền đủ và đúng trong các phiếu điều tra/phiếu yêu cầu xét nghiệm.

- Bảo quản phiếu điều tra, phiếu yêu cầu xét nghiệm trong một túi nilon khác, không để chung với bệnh phẩm.

- Phiếu điều tra/phiếu yêu cầu xét nghiệm có thể mang theo người vận chuyển hoặc dán bên ngoài hộp.

6.4. Vận chuyển bệnh phẩm đến đơn vị xét nghiệm

- Trước khi vận chuyển, đảm bảo bệnh phẩm đã được đóng gói theo đúng quy trình đóng gói và để theo chiều thẳng đứng tránh va đập gây đổ vỡ trong hộp kín.

- Sử dụng túi lạnh, bình chuyên dụng vận chuyển mẫu hoặc hộp xốp để đảm bảo bệnh phẩm vẫn trong trạng thái đông, tránh đông tan băng trong khi vận chuyển.
- Khi vận chuyển qua đường bưu điện hoặc công ty chuyển phát, tuân thủ nghiêm ngặt quy trình đóng gói bệnh phẩm, tránh va đập đổ vỡ trong quá trình vận chuyển.
- Báo trước cho phòng thí nghiệm (hoặc nơi nhận mẫu) biết kế hoạch và thời gian chuyển bệnh phẩm (thời gian xuất phát, thời gian đến ước tính).
- PTN sẽ kiểm tra tính toàn vẹn của mẫu và điều kiện bảo quản mẫu khi nhận.
- Phòng thí nghiệm thông báo ngay cho nơi gửi bệnh phẩm trong trường hợp bệnh phẩm được gửi không đảm bảo chất lượng

Phụ lục 6:**QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VIÊM NÃO VI RÚT
QUY TRÌNH PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ IgM KHÁNG VI RÚT VIÊM NÃO
NHẬT BẢN BẰNG PHƯƠNG PHÁP ELISA****1. Mục đích**

- Quy trình xét nghiệm nhằm phát hiện kháng thể IgM kháng vi rút Viêm não Nhật Bản (JEV) trong mẫu lâm sàng sử dụng kit JE DetectTM IgM antibody capture Elisa

2. Phạm vi áp dụng

- Quy trình xét nghiệm này được áp dụng cho việc phát hiện kháng thể IgM kháng JEV trong mẫu lâm sàng (mẫu huyết thanh và mẫu dịch não tủy)

3. Nguyên lý

- Kháng thể IgM trong mẫu lâm sàng (huyết thanh, dịch não tủy) của người bệnh bị tóm bắt bởi kháng thể kháng IgM được phủ trên bề mặt giếng của phiến 96 giếng. Kháng thể IgM kháng JEV trong mẫu lâm sàng (nếu có) sẽ kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên tái tổ hợp JERA có nguồn gốc từ JEV. Phức hợp này sẽ liên kết đặc hiệu với kháng thể kháng JERA có gắn men peroxidase (cộng hợp) và được nhận biết dưới tác dụng của chất tạo màu TMB (tetramethylbenzidine) và tác nhân oxy hoá.

4. Trách nhiệm**4.1. Trưởng phòng xét nghiệm**

- Duyệt các quy trình liên quan đến xét nghiệm phát hiện kháng thể IgM kháng JEV

4.2. Cán bộ quản lý chất lượng

- Duyệt các dữ liệu kiểm soát chất lượng định kỳ

- Kiểm duyệt và cập nhật quy trình

4.3. Xét nghiệm viên

- Đảm bảo bệnh phẩm được dán nhãn đúng và được ghi lại vào sổ.

- Thực hiện xét nghiệm theo đúng quy trình xét nghiệm

- Hoàn tất báo cáo về xét nghiệm

5. Định nghĩa và các từ viết tắt

- ELISA (enzyme linked immunosorbent assay): phản ứng miễn dịch hấp phụ huỳnh quang liên kết enzyme
- JEV: Vi rút viêm não Nhật Bản
- KN: Kháng nguyên
- JERA: Kháng nguyên JEV
- NCA: Kháng nguyên từ tế bào bình thường
- KT: Kháng thể
- Pos: chứng dương
- Neg: chứng âm
- NK: chứng nội kiểm
- (+): dương tính
- (-): âm tính
- PTN//PXN: phòng thí nghiệm/phòng xét nghiệm
- WHO: Tổ chức Y tế thế giới
- Trang phục phòng thí nghiệm: quần áo trắng
- Trang phục bảo hộ (trang phục chống dịch): quần áo, mũ, giày, khẩu trang, găng tay
- Lây nhiễm: có khả năng gây bệnh trên người
- Tạp nhiễm: nhiễm chéo giữa các xét nghiệm
- Băng dính sậy: băng dính chỉ thị nhiệt độ lò sấy
- Sấy vô trùng: sấy các dụng cụ xét nghiệm
- Sấy tiệt trùng: sấy tiệt trùng tác nhân gây bệnh
- Khử trùng: khử trùng bằng đèn cực tím hoặc cồn 70⁰

6. An toàn

6.1. An toàn chung cho PXN

- An toàn chung cho khu vực xét nghiệm bao gồm an toàn điện, cháy, nổ...
 - + Xem hướng dẫn an toàn điện mục 4.1.2 (VR-5.2-QTQL.02)
 - + Xem hướng dẫn an toàn cháy nổ mục 4.1.1 (VR-5.2-QTQL.02)
- Các biện pháp an toàn phải được tuân thủ nghiêm ngặt từ quá trình nhận mẫu, xét nghiệm, lưu giữ, bảo quản và hủy mẫu.
 - + Xem hướng dẫn trang bị bảo hộ cá nhân mục 4.1.5.1 (VR-5.2-QTQL.02)
 - + Xem hướng dẫn phòng tránh lây nhiễm dịch cơ thể mục 4.1.4.1 (VR-5.2-QTQL.02)
 - + Xem hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 4.3.2 (VR-5.2-QTQL.02)
 - + Xem hướng dẫn vệ sinh và khử nhiễm phòng thí nghiệm mục 4.2.4 (VR-5.2-QTQL.02)
- Các thiết bị hoặc trang phục bảo hộ phải được sử dụng trong quá trình xét nghiệm. Đặc biệt đối với quá trình có tạo ra khí dung phải được thực hiện trong tủ an toàn sinh học.
 - + Xem hướng dẫn thực hành kỹ thuật vi sinh tốt mục 4.2.3 (VR-5.2-QTQL.02)

6.2. Mẫu bệnh phẩm và dụng cụ xét nghiệm

- Khi thao tác trực tiếp với mẫu bệnh phẩm lâm sàng, cán bộ xét nghiệm phải sử dụng trang phục bảo hộ cá nhân: quần áo, găng tay, khẩu trang.
 - + Xem thêm hướng dẫn trang bị bảo hộ cá nhân mục 4.1.5.1 (VR-5.2-QTQL.02)
- Đối với dụng cụ xét nghiệm sắc nhọn phải được loại bỏ theo đúng quy định.
 - + Xem thêm hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 4.3.2 (VR-5.2-QTQL.02)

6.3. Chất thải sau xét nghiệm

- Xử lý chất thải nguy cơ lây nhiễm

+ Xem hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 4.3.2 (VR-5.2-QTQL.02)

6.4. Xử lý sự cố

+ Xem hướng dẫn sự cố an toàn mục 4.1.7 (VR-5.2-QTQL.02)

7. Tiêu chuẩn kỹ thuật

7.1. Độ nhạy, độ đặc hiệu

| | | Dương tính | Âm tính | Tổng số |
|-------------------------|------------|------------|---------|---------|
| JE Detect TM | Dương tính | 31 | 0 | 31 |
| MAC-ELISA | Âm tính | 0 | 197 | 197 |
| Tổng số | | 31 | 197 | 228 |

Độ nhạy: 31/31 (100%)

Độ đặc hiệu: 0/197 (100%)

7.2. Phản ứng chéo

| Nhóm đối tượng cho mẫu xét nghiệm | Tổng số mẫu xét nghiệm | Kết quả dương tính hoặc nghi ngờ khi sử dụng JE Detect TM MAC-ELISA |
|--------------------------------------|------------------------|--|
| Người khỏe mạnh (Bắc Mỹ) | 110 | 0 |
| Người bệnh viêm khớp | 8 | 0 |
| Người mắc bệnh tự miễn | 10 | 0 |
| Người bệnh nhiễm vi rút Cytomegalo | 10 | 0 |
| Người bệnh nhiễm vi rút Epstein-Barr | 15 | 0 |
| Người bệnh thủy đậu | 10 | 0 |
| Người bệnh nhiễm vi rút Viêm gan B | 9 | 0 |
| Người bệnh nhiễm vi rút Viêm gan C | 19 | 0 |
| Người bệnh sốt rét | 5 | 0 |

8. Kiểm soát chất lượng

8.1. Yếu tố ảnh hưởng

- Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm như: lấy bệnh phẩm, chuẩn bị bệnh phẩm, thuốc thử, hiệu chuẩn thiết bị, điều kiện môi trường, tay nghề của nhân viên ...

- Nhằm hạn chế và nâng cao chất lượng xét nghiệm, các thủ tục và quy trình đều được hướng dẫn trực tiếp cho nhân viên xét nghiệm đồng thời hóa chất thuốc thử đều được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất và vẫn còn hạn sử dụng.

8.2. Kiểm soát nguyên vật liệu và trang thiết bị

- Nguyên vật liệu và trang thiết bị đóng vai trò quan trọng trong công tác xét nghiệm, vì vậy vật liệu và thiết bị sử dụng trong xét nghiệm phải được bảo quản tối ưu theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

- Các tủ 4⁰C hoặc tủ -20⁰C chứa hóa chất, sinh phẩm phải được theo dõi hàng ngày; trang thiết bị phải được đảm bảo điều kiện độ ẩm thoáng khí, nhiệt độ <30⁰C và độ ẩm <90%.

8.3. Kiểm soát mẫu bệnh phẩm

- Loại mẫu: huyết thanh, dịch não tủy.

- Điều kiện bảo quản: bảo quản lạnh

- Bảo quản tại nơi lấy mẫu: bảo quản bệnh phẩm tại nơi lấy mẫu từ 2⁰C - 8⁰C, trong vòng 3 ngày mẫu sẽ được chuyển tới PTN, trong quá trình vận chuyển đến PTN giữ tại 2⁰C - 8⁰C.

- Nếu mẫu không được chuyển tới PTN trong vòng 3 ngày, phải bảo quản mẫu dưới -20⁰C

- Tiêu chí loại bỏ: không đạt yêu cầu về thu thập, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm.

+ Xem mục 8 trong Sổ tay thu thập bệnh phẩm (VR-5.4-QTKT.01)

8.4. Kiểm soát mẫu chứng

| Yếu tố đánh giá | Khoảng chấp nhận |
|--|-------------------------|
| Giá trị OD trung bình của chứng âm trong giếng JERA | < 0.300 |
| Giá trị OD trung bình của chứng dương trong giếng JERA | > 0.600 |
| Tỉ số trạng thái miễn dịch của chứng dương | > 6.000 |
| Tỉ số trạng thái miễn dịch của chứng âm | < 2.800 |

8.5. Chương trình ngoại kiểm

- Tham gia chương trình ngoại kiểm hàng năm và tuân thủ tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế thế giới (WHO).
- Tham gia đánh giá liên phòng thí nghiệm với Viện NIID- Nhật Bản

9. Nguyên vật liệu và trang thiết bị

9.1. Điều kiện bảo quản

9.1.1. Hóa chất và sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm sử dụng trong kỹ thuật ELISA phải được bảo quản ở 2-8⁰C theo khuyến cáo của nhà sản xuất để đảm bảo tính ổn định của hóa chất/sinh phẩm
- Tính số lượng giếng sử dụng trong ngày và bảo quản các giếng còn lại chưa sử dụng ở 2-8⁰C.

9.1.2. Dụng cụ tiêu hao và trang thiết bị

- Dụng cụ tiêu hao trong phòng thí nghiệm được bảo quản luôn thông thoáng. Khi sử dụng sẽ được ghi chép thông tin trong biểu mẫu phiếu theo dõi vật tư mã số: VR-5.3-QTQL.02-BM04_1.15.
- Trang thiết bị trong phòng thí nghiệm được bảo quản và vận hành trong khoảng nhiệt độ từ 25±5⁰C, độ ẩm từ 45-90%.

9.2. Sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm JE DetectTM IgM antibody capture ELISA (MAC-ELISA) của công ty Inbios International, Mỹ, bao gồm những thành phần sau:
 - + Đĩa 96 giếng (gồm 12 thanh, 8 giếng/thanh) được phủ kháng thể kháng IgM của người.
 - + Dung dịch pha loãng mẫu: gồm 1 lọ chứa 25 ml dung dịch được sử dụng để pha loãng mẫu trước khi thực hiện phản ứng
 - + Chứng âm JE: gồm 1 ống chứa 50 µl dung dịch chứng âm cho phản ứng
 - + Chứng dương JE: gồm 1 ống chứa 50 µl dung dịch chứng dương cho phản ứng
 - + Kháng nguyên JERA: gồm 1 lọ chứa 5 ml dung dịch, sử dụng trực tiếp
 - + Kháng nguyên NCA: gồm 1 lọ chứa 5 ml dung dịch, sử dụng trực tiếp

- + Cộng hợp: gồm 1 lọ chứa 9 ml dung dịch kháng thể đơn dòng kháng flavivirus gắn men horseradish peroxidase, sử dụng trực tiếp
- + Đệm rửa 10X: gồm 1 lọ chứa 120 ml dung dịch đệm rửa cô đặc 10 lần
- + Dung dịch Enwash: gồm 1 lọ chứa 20 ml dung dịch Enwash, sử dụng trực tiếp
- + Dung dịch cơ chất TMB: gồm 1 lọ chứa 12 ml dung dịch cơ chất, sử dụng trực tiếp
- + Dung dịch dừng phản ứng: Gồm 1 lọ chứa 9 ml dung dịch dừng phản ứng, sử dụng trực tiếp
- Nước cất 2 lần sử dụng để pha dung dịch rửa

9.3. Dụng cụ tiêu hao và trang thiết bị

9.3.1. Dụng cụ tiêu hao

- Dụng cụ cho lấy mẫu
 - + Túi/hộp để đóng gói bệnh phẩm
 - + Băng, gạc có tẩm chất sát trùng
 - + Trang phục bảo hộ (găng tay, khẩu trang...)
 - + Bình lạnh bảo quản mẫu
 - + Bơm tiêm 5 ml, vô trùng
 - + Tube lấy máu (không có chất chống đông)
 - + Dây garo, bông, cồn bít ghi ...
 - + Tube bảo quản mẫu ở -20°C
 - + Hộp giấy đựng mẫu ở -20°C
- Dụng cụ cho xét nghiệm
 - + Tube ly tâm 1.5 ml
 - + Tube pha loãng mẫu 5 ml
 - + Dải 8 tube pha loãng mẫu 1 ml
 - + Pipette đơn kênh: 10; 20; 100; 200 và 1000 μ l
 - + Pipette đa kênh: 30- 300 μ l
 - + Đầu côn: 10; 30; 100; 200 và 1000 μ l
 - + Cốc đong 100-1000 ml.

9.3.2. Trang thiết bị

- Pipet: Xem VR-5.3-01.HDTB.11_1.15
- Máy lắc: VR-5.3-01.HDTB.05_1.15
- Máy rửa phiên ELISA
- Bể ủ nhiệt khô 37⁰C
- Tủ an toàn: VR-5.3-01.HDTB.01_1.15
- Tủ lạnh: VR-5.3-01.HDTB.12_1.15

10. Các bước tiến hành

10.1. Quy trình trước xét nghiệm

10.1.1. Sổ tay thu thập bệnh phẩm

- Sổ tay thu thập bệnh phẩm mã số VR-5.4-QTKT.01
 - + Danh mục xét nghiệm: mục 8.3
 - + Đóng gói bệnh phẩm: mục 8.4
 - + Tiêu chuẩn chấp nhận/từ chối bệnh phẩm: mục 8.7
 - + Yêu cầu xét nghiệm bổ xung: mục 8.8
 - + Xử lý dụng cụ chất thải: mục 9
- Phiếu yêu cầu xét nghiệm: mã số VR-5.4-QTKT.01-BM.01
- Hướng dẫn điền phiếu yêu cầu xét nghiệm: mã số VR-5.4-QTKT.01-BM.01-HD

10.1.2. Tiếp nhận hoặc từ chối mẫu ban đầu

- PTN vi rút arbo tuân thủ quy định các tiêu chuẩn chấp nhận hoặc từ chối mẫu ban đầu trong sổ tay thu thập bệnh phẩm (VR-5.4-QTKT.01)
- Nhân viên PTN vi rút arbo kiểm tra tình trạng mẫu, các văn bản, thông tin liên quan (ví dụ: phiếu yêu cầu xét nghiệm) và quyết định chấp nhận/từ chối mẫu.
- Nếu tiếp nhận mẫu, nhân viên PTN vi rút arbo phải điền thông tin mẫu vào sổ nhận mẫu mã số VR-5.4-QTKT.02-BM.01. Nếu từ chối nhận mẫu bệnh phẩm, nhân viên PTN vi rút arbo phải thông báo rõ lý do cho đơn vị gửi mẫu và tuân thủ các quy định về tiêu huỷ mẫu.
- PTN vi rút arbo không tiếp nhận mẫu ban đầu thiếu thông tin nhận dạng ngoại trừ một số trường hợp mẫu quan trọng, không thể thay thế. Trong trường hợp này, PTN

có thể tạm thời tiếp nhận và tiến hành xét nghiệm mẫu. Tuy nhiên, chỉ công bố kết quả xét nghiệm khi đã nhận đủ thông tin nhận dạng mẫu.

10.2. Quy trình xét nghiệm

10.2.1. Chuẩn bị sinh phẩm

- Lấy bộ sinh phẩm từ tủ bảo quản sinh phẩm để ở nhiệt độ phòng (khoảng 45 phút- 1 giờ) để các thành phần trong bộ kit đạt nhiệt độ phòng (20- 25⁰C) trước khi thực hiện xét nghiệm.

- Không trộn các thành phần của kit từ các lô khác nhau để thực hiện trong cùng một phiên

- Pha dung dịch rửa bằng cách pha loãng 120 ml dung dịch rửa cô đặc 10 lần trong 1.080 ml nước cất 2 lần. Hạn sử dụng của dung dịch rửa sau khi pha loãng xuống 1X là 6 tháng ở nhiệt độ phòng

10.2.2. Quy trình thực hiện

(1) Pha loãng mẫu xét nghiệm:

+ Mẫu xét nghiệm là mẫu huyết thanh: tiến hành pha loãng mẫu huyết thanh 1/100 trong dung dịch pha loãng mẫu bằng cách lấy 5 µl mẫu trộn trong 495 µl dung dịch pha loãng mẫu. Thay đổi đầu tip giữa các mẫu xét nghiệm.

+ Mẫu xét nghiệm là mẫu dịch não tủy: sử dụng trực tiếp mẫu dịch não tủy (không pha loãng) để thực hiện xét nghiệm.

(2) Pha loãng chứng âm, chứng dương phản ứng 1/100 trong dung dịch pha loãng mẫu bằng cách lấy 5 µl mẫu chứng trộn trong 495 µl dung dịch pha loãng mẫu.

(3) Nhỏ 50 µl dung dịch mẫu (S)/chứng âm (Neg)/chứng dương (Pos) đã pha loãng vào các giếng của phiên 96 giếng theo sơ đồ sau.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| A | Neg | Neg | S4 | S4 | S12 | S12 | S20 | S20 | S28 | S28 | S36 | S36 |
| B | Neg | Neg | S5 | S5 | S13 | S13 | S21 | S21 | S29 | S29 | S37 | S37 |
| C | Pos | Pos | S6 | S6 | S14 | S14 | S22 | S22 | S30 | S30 | S38 | S38 |
| D | Pos | Pos | S7 | S7 | S15 | S15 | S23 | S23 | S31 | S31 | S39 | S39 |
| E | NK | NK | S8 | S8 | S16 | S16 | S24 | S24 | S32 | S32 | S40 | S40 |
| F | S1 | S1 | S9 | S9 | S17 | S17 | S25 | S25 | S33 | S33 | S41 | S41 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| G | S2 | S2 | S10 | S10 | S18 | S18 | S26 | S26 | S34 | S34 | S42 | S42 |
| H | S3 | S3 | S11 | S11 | S19 | S19 | S27 | S27 | S35 | S35 | S43 | S43 |

(4) Phủ miếng dán lên các miệng giếng để tránh bay hơi trong quá trình ủ. Ủ phiến ở máy ủ phiến 37⁰C trong một giờ.

Lưu ý: Không đặt các phiến chồng lên nhau, không ủ trong tủ ẩm 37⁰C có CO₂ hay bất kỳ khí khác, không đặt phiến lên trên vật liệu ẩm như giấy ẩm,...

(5) Sau khi ủ một giờ, rửa phiến 6 lần bằng dung dịch rửa 1X (300-350 µl dung dịch rửa/giếng/lần rửa).

(6) Thêm 50 µl/giếng dung dịch JERA vào các cột 1, 3, 5, 7, 9, 11.

(7) Thêm 50 µl/giếng dung dịch NCA vào các cột 2, 4, 6, 8, 10, 12.

(8) Phủ miếng dán lên các miệng giếng để tránh bay hơi trong quá trình ủ. Ủ phiến ở máy ủ phiến 37⁰C trong một giờ.

(9) Sau khi ủ một giờ, rửa phiến 6 lần bằng dung dịch rửa 1X (300-350 µl dung dịch rửa/giếng/lần rửa).

(10) Thêm 50 µl/giếng dung dịch cộng hợp vào tất cả các giếng.

(11) Phủ miếng dán lên các miệng giếng để tránh bay hơi trong quá trình ủ. Ủ phiến ở máy ủ phiến 37⁰C trong một giờ (lưu ý: tránh để phiến tiếp xúc với ánh sáng trong quá trình ủ).

(12) Sau khi ủ một giờ, rửa phiến 6 lần bằng dung dịch rửa 1X (300-350 µl dung dịch rửa/giếng/lần rửa).

(13) Thêm 150 µl/giếng dung dịch Enwash vào tất cả các giếng. Ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút (lưu ý: Không phủ kín miệng giếng).

(14) Sau khi ủ 5 phút, rửa phiến 6 lần bằng dung dịch rửa 1X (300-350 µl dung dịch rửa/giếng/lần rửa).

(15) Thêm 75 µl/giếng dung dịch cơ chất TMB vào tất cả các giếng. Ủ phiến trong tối ở nhiệt độ phòng trong 10 phút.

(16) Sau thời gian ủ 10 phút, thêm 50 µl/giếng dung dịch dừng phản ứng vào tất cả các giếng.

(17) Đọc phiến ở bước sóng 450 nm trong vòng 5 phút sau khi dừng phản ứng bằng máy đọc phiến.

10.2.2. Đọc kết quả

- Đánh giá xét nghiệm thông qua các mẫu chứng:

+ Tính tỉ số trạng thái miễn dịch (ISR) của chứng âm và chứng dương như sau:

$$ISR(\text{neg}) = \text{mean}(OD_{A1,B1})/\text{mean}(OD_{A1,B1})$$

$$ISR(\text{pos}) = \text{mean}(OD_{C1,D1})/\text{mean}(OD_{C1,D1})$$

+ Kết quả xét nghiệm chỉ được chấp nhận khi thỏa mãn 5 điều kiện sau:

| | |
|----------------------|---------|
| Mean($OD_{A1,B1}$) | < 0.300 |
| Mean($OD_{C1,D1}$) | > 0.600 |
| ISR(pos) | > 6.000 |
| ISR(neg) | < 2.800 |
| ISR(NK) | > 6.000 |

- Sau khi đánh giá xét nghiệm đạt, tiến hành tính tỉ số trạng thái miễn dịch của mẫu xét nghiệm (S): $ISR(S) = OD_{JERA}/OD_{NCA}$.

- Đọc kết quả:

| ISR | Kết quả | Kết luận |
|-----------|------------|---|
| <4.0 | Âm tính | Không phát hiện kháng thể IgM kháng JEV bằng kỹ thuật |
| 4.0 – 6.0 | Nghi ngờ | Cần thực hiện lại xét nghiệm. Nếu kết quả xét nghiệm lại vẫn nghi ngờ, kết luận mẫu âm tính |
| >6.0 | Dương tính | Phát hiện kháng thể IgM kháng JEV trong mẫu xét nghiệm |

10.2.3. Ghi chép và báo cáo

- Nhập kết quả xét nghiệm vào sổ theo dõi người bệnh (VR-5.4-QTKT.02-BM.01-HS-VRAB).

- Nhập kết quả vào máy tính chương trình Excel theo định dạng mẫu và gửi file kết quả cho quản lý kỹ thuật, sau đó QLKT sẽ đối chiếu kết quả và chuyển vào file tổng hợp.

- Người kiểm tra sẽ kiểm tra lại kết quả trước khi báo cáo Trưởng phòng thí nghiệm.

10.3. Quy trình đảm bảo chất lượng kết quả xét nghiệm

10.3.1. Quy trình sản xuất chứng nội bộ

Xem VR-5.6-01.QTKT.01_1.15

10.3.2. Quy trình kiểm tra chất lượng nguyên vật liệu

- Nguyên vật liệu bao gồm vật liệu tiêu hao và sinh phẩm khi nhập phải được kiểm tra theo mỗi loạt của nhà sản xuất (VR-5.3-QTQL.02-BM.03)

10.3.3. Quy trình quản lý thiết bị - đánh giá độ tương đồng thiết bị

Xem VR-5.3-QTQL.01 mục 5.1

10.3.4. Quy trình chạy mẫu ngoại kiểm

Xem VR-5.6-QTKT.02

10.4. Quy trình sau xét nghiệm

10.4.1. Quy trình lưu giữ mẫu sau xét nghiệm

Xem VR-5.7-QTKT.01

10.4.2. Quy trình tiêu hủy bệnh phẩm

Xem VR-5.7-QTKT.02

11. Trả kết quả

Xem quy trình trả kết quả (VR-5.8-QTKT.01)

12. Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải

12.1. Xử lý mẫu

12.1.1. Quy trình lưu giữ, bảo quản

- Mẫu bệnh phẩm sau khi xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN vi rút arbo

Xem quy trình lưu giữ mẫu sau xét nghiệm (VR-5.7-QTKT.01)

| Mẫu | Điều kiện | Thời gian lưu (sau khi trả kết quả) |
|------------|------------------|---|
| Bệnh phẩm | -20°C | 1 năm |

- Tùy theo tình hình thực tế của PTN mà có thể lưu giữ hoặc hủy mẫu sớm hay muộn hơn thời gian quy định.

12.1.2. Quy trình hủy mẫu

- Mẫu bệnh phẩm hết thời gian bảo quản hoặc không dùng trong xét nghiệm sẽ được hủy theo tiêu chuẩn an toàn sinh học của luật sở tại (trong nước/nội bộ) và theo hệ thống quản lý chất lượng.

Xem quy trình tiêu hủy bệnh phẩm (VR-5.7-QTKT.02)

12.2. Xử lý dụng cụ/chất thải sau xét nghiệm

Xem hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 4.3.2 (VR-5.2-QTQL.02)

12. Biểu mẫu

Biểu mẫu kết quả ELISA
QTKT.02-BM.07_1.16

VR-5.5-

13. Tài liệu tham khảo

- JE Detect IgM Antibody capture elisa (MAC-Elisa) Handbook, Inbios

QUY TRÌNH ELISA PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ IgM KHÁNG VI RÚT DENGUE

1. Mục đích

Xác định kháng thể IgM kháng vi rút Dengue trong mẫu lâm sàng bằng kỹ thuật ELISA.

2. Phạm vi áp dụng

Áp dụng cho các nhân viên của phòng thí nghiệm thực hiện xét nghiệm ELISA phát hiện IgM kháng vi rút Dengue.

3. Trách nhiệm

3.1. Trưởng khoa

- Phê duyệt các quy trình liên quan đến xét nghiệm ELISA phát hiện kháng thể IgM kháng vi rút Dengue.

3.2. Trưởng phòng thí nghiệm

- Duyệt các dữ liệu kiểm soát chất lượng định kỳ
- Kiểm duyệt và cập nhật quy trình

3.3. Xét nghiệm viên

- Thực hiện xét nghiệm theo đúng quy trình xét nghiệm đã soạn thảo.
- Đóng góp ý kiến nếu phát hiện sai sót cần sửa chữa.
- Thực hiện xét nghiệm trên các thiết bị được đóng dấu ISO

4. Định nghĩa và từ viết tắt

4.1. Định nghĩa

- Độ nhạy: là khả năng phát hiện chính xác những mẫu dương tính thật của bộ sinh phẩm.
- Độ đặc hiệu: là khả năng phát hiện chính xác những mẫu âm tính thật của bộ sinh

phẩm.

- Mẫu trắng (blank)/âm tính: là mẫu không chứa chất/yếu tố cần phân tích.
- Mẫu dương tính: là mẫu có chứa chất/yếu tố cần phân tích.
- Mẫu nghi ngờ: là mẫu không xác định được có chứa chất/yếu tố cần phân tích hay không bằng bộ sinh phẩm/lần xét nghiệm đó.

4.2. Từ viết tắt

- ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay: kỹ thuật miễn dịch gắn enzyme.
- IHC: Inhouse quality control: mẫu nội kiểm/chứng dương nội bộ.
- DENV: vi rút Dengue
- TCYTTG: Tổ chức Y tế thế giới.

5. Nguyên lý

Kháng thể IgM trong mẫu lâm sàng (huyết thanh, huyết tương) của người bệnh bị tóm bắt bởi kháng thể kháng IgM của người được phủ trên bề mặt giếng của phiến 96 giếng. Các immunoglobulin không bám đặc hiệu vào kháng thể kháng IgM sẽ bị rửa trôi. Kháng nguyên DENV cộng hợp peroxidase sẽ liên kết đặc hiệu với kháng thể IgM đã bị tóm bắt. Phức hợp này được nhận biết dưới tác dụng của chất tạo màu TMB (tetramethylbenzidine) và tác nhân oxy hoá (H_2O_2)

6. An toàn

6.1. An toàn chung cho PXN

- An toàn chung cho khu vực xét nghiệm bao gồm an toàn điện, cháy, nổ...
- + Xem hướng dẫn an toàn điện mục 10.1 (STAT)
- + Xem hướng dẫn an toàn cháy nổ mục 10.2 (STAT)
- Các biện pháp an toàn phải được tuân thủ nghiêm ngặt từ quá trình nhận mẫu, xét nghiệm, lưu giữ, bảo quản và hủy mẫu.
- + Xem hướng dẫn trang bị bảo hộ cá nhân mục 5.1 (STAT)

- + Xem hướng dẫn phòng tránh lây nhiễm dịch cơ thể mục 8 (STAT)
- + Xem hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 8.3 (STAT)
- + Xem hướng dẫn vệ sinh và khử nhiễm phòng thí nghiệm mục 8.4 (STAT)
- Các thiết bị hoặc trang phục bảo hộ phải được sử dụng trong quá trình xét nghiệm. Đặc biệt đối với quá trình có tạo ra khí dung phải được thực hiện trong tủ an toàn sinh học.
- + Xem hướng dẫn thực hành an toàn mục 8.2 (STAT)

6.2. Mẫu bệnh phẩm và dụng cụ xét nghiệm

- Khi thao tác trực tiếp với mẫu bệnh phẩm lâm sàng, cán bộ xét nghiệm phải sử dụng trang phục bảo hộ cá nhân: quần áo, găng tay, khẩu trang.
- + Xem thêm hướng dẫn trang bị bảo hộ cá nhân mục 5.1 (STAT)
- Đối với dụng cụ xét nghiệm sắc nhọn phải được loại bỏ theo đúng quy định.
- + Xem thêm hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 8.3 (STAT)

6.3. Chất thải sau xét nghiệm

- Xử lý chất thải nguy cơ lây nhiễm
- + Xem hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 8.3 (STAT)

6.4. Xử lý sự cố

- + Xem hướng dẫn sự cố an toàn mục 8.4 (STAT)

7. Đặc trưng kỹ thuật

| | | | | |
|----------|--|---|------------|-------|
| Thông số | Độ nhạy | 98% | | |
| | Độ đặc hiệu | 99% (khi thực hiện xét nghiệm trên 196 mẫu) 98% (khi thực hiện xét nghiệm trên 92 mẫu) | | |
| | Độ lặp lại (1 người thực hiện xét nghiệm 3 mẫu huyết thanh trong 1 lần xét nghiệm, mỗi | Mẫu huyết thanh | Số lần lặp | % CV |
| | | PC | 10 | 0.934 |
| | NC | 10 | 4.95 | |

| | | | | |
|---------|---|-----------------|------------|------|
| | mẫu lặp lại 10 lần) | CO | 10 | 2.25 |
| | Độ tái lập (2 người thực hiện xét nghiệm 3 mẫu huyết thanh 5 lần/5 ngày liên tiếp) | Mẫu huyết thanh | Số lần lặp | % CV |
| | | PC | 10 | 0.52 |
| | | NC | 10 | 3.16 |
| | | CO | 10 | 2.94 |
| Hạn chế | <ul style="list-style-type: none"> - Kít được thiết kế sử dụng cho mẫu huyết thanh/huyết tương của người - Kết quả xét nghiệm nên kết hợp với những triệu chứng lâm sàng và những xét nghiệm chẩn đoán khác để cho kết quả chính xác - Nồng độ kháng thể IgM thấp có thể tồn tại trên 12 tháng sau khi bị nhiễm vi rút - Kết quả xét nghiệm âm tính ở những người bệnh bị ức chế miễn dịch không loại trừ khả năng người bệnh đó nhiễm vi rút - Sự hoạt hóa lại vi rút từ pha tiềm ẩn có thể không cho kết quả dương tính với kháng thể IgM đặc hiệu | | | |

8. Nguyên vật liệu và trang thiết bị

8.1. Điều kiện bảo quản

8.1.1. Hóa chất và sinh phẩm

- Hóa chất sinh phẩm sử dụng trong kỹ thuật ELISA phải được bảo quản theo khuyến cáo của nhà sản xuất để đảm bảo tính ổn định của hóa chất/sinh phẩm.

8.1.2. Dụng cụ tiêu hao và trang thiết bị

- Dụng cụ tiêu hao trong phòng thí nghiệm được bảo quản luôn thông thoáng. Khi sử dụng sẽ được ghi chép thông tin trong biểu mẫu phiếu theo dõi vật tư mã số: QL04-QT02-BM03

- Trang thiết bị trong phòng thí nghiệm được bảo quản và vận hành trong khoảng nhiệt độ từ $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$, độ ẩm từ 45-90%.

8.2. Mẫu bệnh phẩm:

- Mẫu huyết thanh, huyết tương.

8.3. Hóa chất và sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm Dengue Elisa IgM capture (Vircell, Tây Ban Nha) bao gồm các thành phần:

- + Phiến 96 giếng được phủ kháng thể kháng IgM
- + Dung dịch pha loãng mẫu: 25 ml dung dịch đệm phosphate màu xanh nước biển
- + Chứng dương IgM: 1,5 ml
- + Chứng Cut off IgM: 2 ống, mỗi ống 1,5 ml
- + Chứng âm IgM: 1,5 ml
- + Kháng nguyên Dengue: gồm 5 ống chứa vi rút Dengue típ 1 (chủng Hawaii), típ 2 (chủng New Guinea C), típ 3 (chủng H87), và típ 4 (chủng H241) đã được bất hoạt và giữ ở dạng đông khô.
- + Dung dịch cộng hợp: 17 ml dung dịch kháng thể đơn dòng kháng vi rút Dengue gắn peroxidase
- + Dung dịch cơ chất TMB: 15 ml dung dịch cơ chất chứa tetramethylbenzidine
- + Dung dịch dừng phản ứng: 15 ml dung dịch H₂SO₄ 0.5M
- + Dung dịch nước rửa: 50 ml dung dịch nước rửa cô đặc 20 lần chứa Tween 20 và proclin
- Nước cất 2 lần

Chú ý: Tấm phản ứng đã mở, các dung dịch đã pha loãng cần tuân thủ theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

8.4. Dụng cụ tiêu hao và trang thiết bị

8.4.1. Dụng cụ tiêu hao

- Tube ly tâm 1.5 ml
- Tube ly tâm 2.0 ml
- Đầu côn các loại 200 và 1000 μ l

- Giá tích lạnh
- Ống đong 1000ml
- Giấy thấm

8.4.2. Trang thiết bị

Chỉ sử dụng các trang thiết bị được đóng dấu ISO

- Pipet: Quy trình NV05-VR-QT5.3.11
- Máy lắc: Quy trình NV05-VR-QT5.3.06
- Lò sấy: Quy trình NV05-VR-QT5.3.09
- Máy ly tâm: Quy trình NV05-VR-QT5.3.10
- Tủ an toàn: Quy trình NV05-VR-QT5.3.01
- Tủ lạnh: Quy trình NV05-VR-QT5.3.15
- Máy đọc phiên vi lượng: Quy trình NV05-VR-QT5.3.04
- Máy rửa phiên vi lượng: Quy trình NV05-VR-QT5.3.13
- Máy ủ phiên vi lượng: Quy trình NV05-VR-QT5.3.16

9. Kiểm soát chất lượng

9.1. Yếu tố ảnh hưởng

- Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm như: lấy bệnh phẩm, chuẩn bị bệnh phẩm, thuốc thử, hiệu chuẩn thiết bị, điều kiện môi trường, tay nghề của nhân viên ...
- Nhằm hạn chế và nâng cao chất lượng xét nghiệm, các thủ tục và quy trình đều được hướng dẫn trực tiếp cho nhân viên xét nghiệm đồng thời hóa chất thuốc thử đều được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất và vẫn còn hạn sử dụng.

9.2. Kiểm soát nguyên vật liệu và trang thiết bị

- Nguyên vật liệu và trang thiết bị đóng vai trò quan trọng trong công tác xét nghiệm, vì vậy vật liệu và thiết bị sử dụng trong xét nghiệm phải được bảo quản tối ưu theo khuyến cáo của nhà sản xuất.
- Các tủ 4⁰C hoặc tủ -20⁰C chứa hóa chất, sinh phẩm phải được theo dõi hàng ngày; trang thiết bị phải được đảm bảo điều kiện độ ẩm thoáng khí, nhiệt độ <30⁰C và độ ẩm <90%.

9.3. Kiểm soát mẫu bệnh phẩm

- Điều kiện bảo quản: bảo quản âm, tránh đông tan mẫu nhiều lần
- Tiêu chí loại bỏ: không đạt yêu cầu về thu thập, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm.
- + Xem mục 8 trong Sổ tay thu thập bệnh phẩm (NV05-VR-QT5.4.01)

9.4. Kiểm soát mẫu chứng

| Chứng | OD |
|--------------|-----------|
| Chứng dương | >0.9 |
| Chứng âm | <0.5 |
| Cut off | >0.55 |
| | <1.5 |

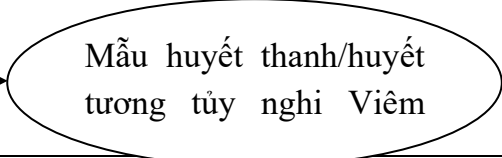
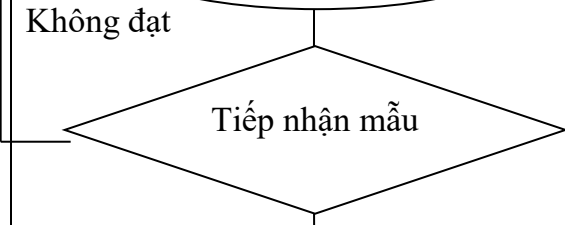
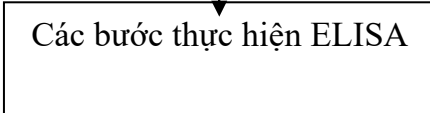
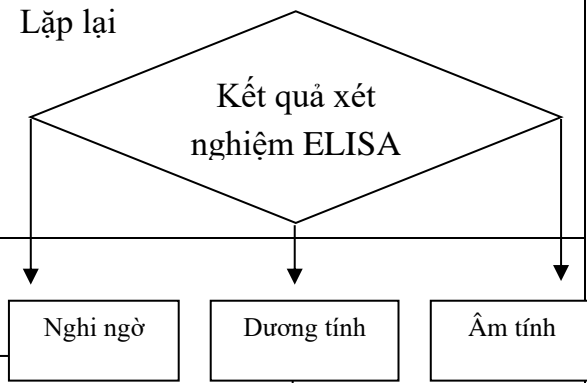
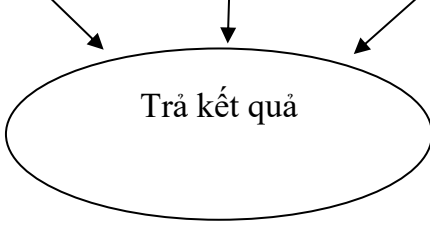
- Mẫu nội kiểm được sản xuất và tuân thủ theo quy trình kỹ thuật NV05-VR-QT5.6.01. Các lần thực hiện xét nghiệm đều phải sử dụng mẫu nội kiểm. Nếu mẫu nội kiểm không nằm trong tiêu chuẩn cho phép, cần hủy bỏ kết quả xét nghiệm lần đó và không được tính toán kết quả xét nghiệm của người bệnh.

9.5. Chương trình ngoại kiểm

- Tham gia chương trình ngoại kiểm hàng năm và tuân thủ tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế thế giới (WHO).

10. Nội dung

10.1. Lưu đồ

| Bước | Trách nhiệm | Trình tự thực hiện | Tài liệu |
|------|---|--|----------------------------|
| 1 | Khách hàng |  | NV05-VR-STLM |
| 2 | Khách hàng Nhân viên PXN |  | NV05-VR- QT5.1.01 |
| 3 | Nhân viên PXN |  | NV05- VR01- QT5.5.01 |
| 4 | Nhân viên PXN |  | NV05- VR01- QT5.5.01 |
| 5 | Nhân viên PXN, Trưởng phòng xét nghiệm, Lãnh đạo Viện |  | NV05- QT5.8.01 |

10.2. Các bước thực hiện

10.2.1. Quy trình trước xét nghiệm

10.2.1.1. Sỏ tay thu thập bệnh phẩm

- Sỏ tay thu thập bệnh phẩm mã số NV05-VR-QT5.4.01

- + Danh mục xét nghiệm: mục 8.3
- + Đóng gói bệnh phẩm: mục 8.4
- + Tiêu chuẩn chấp nhận/từ chối bệnh phẩm: mục 8.7
- + Yêu cầu xét nghiệm bổ xung: mục 8.8
- + Xử lý dụng cụ chất thải: mục 9
- Phiếu yêu cầu xét nghiệm: NV05-VR-5.4.01-BM02
- Hướng dẫn điền phiếu yêu cầu xét nghiệm: mã số NV05-VR-5.4.01-BM.01-HD

10.2.1.2. Tiếp nhận hoặc từ chối mẫu ban đầu

- PTN vi rút arbo tuân thủ quy định các tiêu chuẩn chấp nhận hoặc từ chối mẫu ban đầu trong sổ tay thu thập bệnh phẩm (NV05-VR-QT5.4.01)
- Nhân viên PTN vi rút arbo kiểm tra tình trạng mẫu, các văn bản, thông tin liên quan (ví dụ: phiếu yêu cầu xét nghiệm) và quyết định chấp nhận/từ chối mẫu.
- Nếu tiếp nhận mẫu, nhân viên PTN vi rút arbo phải điền thông tin mẫu vào sổ nhận mẫu mã số NV05-VR-QT5.4.02-BM.01. Nếu từ chối nhận mẫu bệnh phẩm, nhân viên PTN vi rút arbo phải thông báo rõ lý do cho đơn vị gửi mẫu và tuân thủ các quy định về tiêu huỷ mẫu.
- PTN vi rút arbo không tiếp nhận mẫu ban đầu thiếu thông tin nhận dạng ngoại trừ một số trường hợp mẫu quan trọng, không thể thay thế. Trong trường hợp này, PTN có thể tạm thời tiếp nhận và tiến hành xét nghiệm mẫu. Tuy nhiên, chỉ công bố kết quả xét nghiệm khi đã nhận đủ thông tin nhận dạng mẫu.

10.2.2. Quy trình xét nghiệm

- Mẫu huyết thanh/huyết tương lưu giữ ở -20°C làm tan băng ở nhiệt độ phòng.
- Bộ sinh phẩm được để nguyên trong hộp và đưa về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng (khoảng 45 phút- 1 giờ).
- Không trộn các thành phần của kit từ các lô khác nhau để thực hiện trong cùng một phiên
- Chuẩn bị pha dung dịch, sinh phẩm và mẫu bệnh phẩm theo hướng dẫn bộ sinh

phẩm

10.2.2.1. Chuẩn bị sinh phẩm

- Pha nước rửa: thêm 950 ml nước cất 2 lần vào 50 ml dung dịch nước rửa 20X (làm ấm lọ nước rửa ở 37°C trước khi pha loãng để tránh hiện tượng kết tinh muối trong nước rửa).

- Chuẩn bị số giếng để xét nghiệm (1 mẫu/giếng + 1 giếng cho chứng âm + 2 giếng cho Cut off + 1 giếng cho chứng dương + 1 giếng cho IHC)

- Chuẩn bị hỗn dịch kháng nguyên- cộng hợp (hỗn dịch kháng nguyên- cộng hợp phải được chuẩn bị ít nhất một giờ trước khi sử dụng): Thêm 3 ml dung dịch cộng hợp vào mỗi ống kháng nguyên đông khô, chờ 1 phút sau đó trộn đều (hỗn dịch này có thể được sử dụng trong vòng 2 tháng khi bảo quản ở 2- 8°C).

- Cài đặt máy ủ ở 37°C

10.2.2.2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha loãng mẫu 1/20: 5 µl mẫu + 95 µl dung dịch pha loãng mẫu (sample dilution).

- Thêm 80 µl dung dịch pha loãng mẫu vào tất cả các giếng (trừ giếng neg, cal, pos).

- Thêm 20 µl dung dịch mẫu đã pha loãng 1/20 vào tất cả các giếng.

- Thêm 100 µl chứng âm, 100 µl cut off, 100 µl chứng dương vào các giếng theo sơ đồ.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | Neg | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| B | Cut off | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| C | Cut off | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| D | Pos | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| E | IHC | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| F | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| G | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| H | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |

- Phủ miếng dán lên các miệng giếng để tránh bay hơi trong quá trình ủ. Ủ phiên ở máy ủ phiên 37°C trong 60 phút ± 1 phút.

Lưu ý: Không đặt các phiến chồng lên nhau, không ủ trong tủ ẩm 37°C có CO₂ hay bất kỳ khí khác, không đặt phiến lên trên vật liệu ẩm như giấy ẩm,... Rửa phiến 5 lần.

- Thêm 100 µl hỗn hợp kháng nguyên- cộng hợp vào tất cả các giếng.
- Phủ miếng dán lên các giếng để tránh bay hơi trong quá trình ủ. Ủ phiến ở máy ủ phiến 37°C trong 60 phút ± 1 phút. Rửa phiến 5 lần.
- Thêm 100 µl dung dịch cơ chất vào các giếng. Ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút (tránh ánh sáng).
- Thêm 50 µl dung dịch dừng phản ứng vào các giếng.
- Đọc phiến ở bước sóng 450/620 nm trong vòng 1 giờ sau khi thêm dung dịch dừng phản ứng.

11. Kết quả và biện luận

11.1. Tiêu chuẩn đọc kết quả

- Đánh giá xét nghiệm thông qua các mẫu chứng:
- + Kết quả xét nghiệm chỉ được chấp nhận khi thỏa mãn các điều kiện sau

| Chứng | OD |
|-------------|-------|
| Chứng dương | >0.9 |
| Chứng âm | <0.5 |
| Cut off | >0.55 |
| | <1.5 |

+ Mẫu nội kiểm đạt tiêu chuẩn quy định theo quy trình NV05-VR-QT5.6.01.

- Đọc kết quả:

Tính giá trị trung bình của Cut off (Mean_{CO})

Chỉ số kháng thể = (OD_{mẫu}/OD_{mean_{CO}}) x 10

| Chỉ số kháng thể | Kết luận |
|------------------|----------|
| <9 | Âm tính |

| | | |
|------|------------|--------------------|
| 9-11 | Nghi ngờ | Lặp lại xét nghiệm |
| >11 | Dương tính | |

- Các mẫu xét nghiệm có kết quả nghi ngờ trả lời là nghi ngờ và làm lặp lại 2 lần trong các lần xét nghiệm tiếp theo. Nếu mẫu xét nghiệm lần 2 không phải là nghi ngờ thì trả lời lại kết quả cho khách hàng. Nếu kết quả vẫn nghi ngờ, khuyến cáo người bệnh lấy thêm mẫu lần 2 để khẳng định lại.

- Hoàn thành kết quả theo Biểu mẫu kết quả xét nghiệm cho phương pháp ELISA (NV05-VR01-QT5.5.02-BM01).

- Nhập kết quả xét nghiệm vào sổ theo dõi người bệnh (NV05-VR-QT5.4.02-BM01).

- Nhập kết quả vào máy tính chương trình Excel theo định dạng mẫu và gửi file kết quả cho trưởng PTN, sau khi trưởng PTN đối chiếu kết quả, kết quả được cập nhật vào file tổng hợp.

- Cán bộ được phân công nhập kết quả xét nghiệm vào phiếu trả lời kết quả NV05-QT5.8.01-BM01 theo quy trình trả kết quả xét nghiệm NV05-QT5.8.01.

12. Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải

12.1. Xử lý mẫu

12.1.1. Lưu giữ, bảo quản

- Mẫu bệnh phẩm sau khi xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN vi rút arbo

Xem quy trình lưu giữ mẫu sau xét nghiệm (NV05-QT5.7.01)

| Mẫu | Điều kiện | Thời gian lưu (sau khi trả kết quả) |
|---------------|-----------|--|
| Bệnh phẩm | -20°C | 10 năm |
| Mẫu pha loãng | 4°C | 1 ngày |

- Tùy theo tình hình thực tế của PTN mà có thể lưu giữ hoặc hủy mẫu sớm hay muộn hơn thời gian quy định.

12.1.2. Hủy mẫu

- Mẫu bệnh phẩm hết thời gian bảo quản hoặc không dùng trong xét nghiệm sẽ được hủy theo tiêu chuẩn an toàn sinh học của luật sở tại (trong nước/nội bộ) và theo hệ thống quản lý chất lượng.

Xem quy trình tiêu hủy bệnh phẩm (NV05-QT5.7.01)

12.2. Xử lý dụng cụ/chất thải sau xét nghiệm

Xem hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 8.3 (STAT)

13. Phụ lục và biểu mẫu

| Stt | Tên phụ lục, biểu mẫu | Mã số |
|-----|--|------------------------|
| 1 | Biểu mẫu kết quả ELISA IgM kháng vi rút Dengue | NV05-VR01-QT5.5.2-BM01 |

14. Hồ sơ

| Stt | Tên hồ sơ | Đơn vị lưu trữ | Hình thức lưu | Thời gian lưu |
|-----|---------------------------------------|----------------|-----------------|---------------|
| 1 | Hồ sơ phiếu yêu cầu xét nghiệm | PTN Arbo | Văn bản | 5 năm |
| | | | Điện tử | 10 năm |
| 2 | Hồ sơ xét nghiệm | PTN Arbo | Văn bản | 5 năm |
| | | | Điện tử | 10 năm |
| 3 | Hồ sơ phiếu trả kết quả xét nghiệm | PTN Arbo | Văn bản | 5 năm |
| | | | Điện tử | 10 năm |
| 4 | Hồ sơ theo dõi trả kết quả xét nghiệm | PTN Arbo | Văn bản/điện tử | 5 năm |
| 5 | Sổ theo dõi người bệnh | PTN Arbo | Văn bản | 5 năm |
| | | | Điện tử | 10 năm |

15. Tài liệu tham khảo

- Dengue Elisa IgM Capture Handbook, Vircell
- Dengue Guidelines for Diagnosis Treatment, Prevention and Control, 2009
- Thông tư số 53/2017/TT-BYT quy định thời hạn bảo quản hồ sơ, tài liệu chuyên môn nghiệp vụ ngành y tế ban hành ngày 29/12/2017.

QUY TRÌNH CHẨN ĐOÁN NHIỄM VI RÚT DENGUE BẰNG REALTIME RT-PCR

1. Mục đích

- Quy trình xét nghiệm chẩn đoán virút Dengue đưa ra tiêu chuẩn xét nghiệm phát hiện vật liệu di truyền vi rút Dengue bằng phương pháp realtime RT-PCR.

2. Phạm vi áp dụng

- Quy trình xét nghiệm này được áp dụng cho việc định tính vi rút Dengue trong mẫu bệnh phẩm hoặc dịch nuôi cấy tế bào.

3. Trách nhiệm

3.1. Trưởng khoa

- Phê duyệt các quy trình liên quan đến xét nghiệm Dengue

3.2. Trưởng phòng thí nghiệm

- Duyệt các quy trình liên quan đến xét nghiệm chẩn đoán vi rút Dengue

3.3. Cán bộ quản lý chất lượng

- Duyệt các dữ liệu kiểm soát chất lượng định kỳ

- Kiểm duyệt và cập nhật quy trình

3.4. Xét nghiệm viên

- Đảm bảo bệnh phẩm được dán nhãn đúng và được ghi lại vào sổ.

- Thực hiện xét nghiệm

- Hoàn tất báo cáo về xét nghiệm.

4. Định nghĩa và từ viết tắt

4.1. Định nghĩa

- Trang phục phòng thí nghiệm: quần áo trắng

- Trang phục bảo hộ (trang phục chống dịch): quần áo, mũ, giày, khẩu trang, găng tay

- Lây nhiễm: có khả năng gây bệnh trên người

- Tạp nhiễm: nhiễm chéo giữa các xét nghiệm

- Băng dính sậy: băng dính chỉ thị nhiệt độ lò sấy

- Sấy vô trùng: sấy các dụng cụ xét nghiệm

- Sấy tiệt trùng: sấy tiệt trùng tác nhân gây bệnh
- Khử trùng: khử trùng bằng đèn cực tím hoặc cồn 70 độ

4.2. Từ viết tắt

- Realtime RT-PCR: phản ứng chuỗi polymerase thời gian thực
- POS: chứng dương
- NTC: chứng âm phản ứng
- NEC: chứng âm tách chiết
- (+): dương tính
- (-): âm tính
- D1: Vi rút Dengue 1,
- D2: Vi rút Dengue 2,
- D3: Vi rút Dengue 3
- D4: Vi rút Dengue 4
- POS D1-4: Hỗn hợp chứng dương gồm 4 tít D1, D2, D3, D4
- PTN/PXN: phòng thí nghiệm/phòng xét nghiệm
- WHO: Tổ chức Y tế thế giới

5. Nguyên lý

- Quy trình xét nghiệm vi rút Dengue dựa trên xét nghiệm phát hiện vật liệu di truyền bằng phản ứng chuỗi polymerase thời gian thực (realtime RT-PCR). Hiện nay, kỹ thuật Realtime RT-PCR đã trở thành một công cụ được ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực của y sinh học đặc biệt là lĩnh vực chẩn đoán bệnh với các tác nhân là vi rút.
- Khác với RT-PCR thông thường, phương pháp realtime RT-PCR sử dụng thêm bộ mẫu dò phát huỳnh quang (probe) có khả năng phát hiện sản phẩm (vật liệu di truyền của vi rút) trong quá trình tổng hợp sản phẩm.
- Mẫu dò là một đoạn oliogucleotit (ví dụ: Taqman[®] probe) được gắn với một chất nhuộm phát tín hiệu huỳnh quang ở đầu 5' (R), đầu kia thì được gắn với thuốc nhuộm ức chế phát huỳnh quang (Q). Khi mẫu dò còn nguyên vẹn, Q có vai trò nhận năng lượng phát ra từ R (hiệu ứng chuyển năng lượng huỳnh quang). Nếu có trình tự đích,

mẫu dò và môi sẽ gắn vào khuôn, quá trình tổng hợp bắt đầu. Trong quá trình tổng hợp, enzym Taq DNA polymerase với hoạt tính exonuclease sẽ cắt các nucleotid của mẫu dò từ đầu 5', giải phóng R khỏi Q, làm tăng tín hiệu huỳnh quang của R. Càng nhiều sản phẩm tạo thành thì càng nhiều mẫu dò bị phân cắt và tín hiệu của R phát ra càng nhiều. Máy đọc tín hiệu huỳnh quang của máy sẽ thu tín hiệu R, xử lý bằng phần mềm và đưa ra kết quả cuối cùng.

6. An toàn

6.1. An toàn chung cho PXN

- An toàn chung cho khu vực xét nghiệm bao gồm an toàn điện, cháy, nổ...
- + Xem hướng dẫn an toàn điện mục 10.1 (STAT)
- + Xem hướng dẫn an toàn cháy nổ mục 10.2 (STAT)
- Các biện pháp an toàn phải được tuân thủ nghiêm ngặt từ quá trình nhận mẫu, xét nghiệm, lưu giữ, bảo quản và hủy mẫu.
- + Xem hướng dẫn trang bị bảo hộ cá nhân mục 5.1 (STAT)
- + Xem hướng dẫn phòng tránh lây nhiễm dịch cơ thể mục 8 (STAT)
- + Xem hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 8.3 (STAT)
- + Xem hướng dẫn vệ sinh và khử nhiễm phòng thí nghiệm mục 8.4 (STAT)
- Các thiết bị hoặc trang phục bảo hộ phải được sử dụng trong quá trình xét nghiệm. Đặc biệt đối với quá trình có tạo ra khí dung phải được thực hiện trong tủ an toàn sinh học.
- + Xem hướng dẫn thực hành an toàn mục 8.2 (STAT)

6.2. Mẫu bệnh phẩm và dụng cụ xét nghiệm

- Khi thao tác trực tiếp với mẫu bệnh phẩm lâm sàng, cán bộ xét nghiệm phải sử dụng trang phục bảo hộ cá nhân: quần áo, găng tay, khẩu trang.
- + Xem thêm hướng dẫn trang bị bảo hộ cá nhân mục 5.1 (STAT)
- Đối với dụng cụ xét nghiệm sắc nhọn phải được loại bỏ theo đúng quy định.
- + Xem thêm hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 8.3 (STAT)

6.3. Chất thải sau xét nghiệm

- Xử lý chất thải nguy cơ lây nhiễm

+ Xem hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 8.3 (STAT)

6.4. Xử lý sự cố

+ Xem hướng dẫn sự cố an toàn mục 8.4 (STAT)

7. Đặc trưng kỹ thuật

Đặc trưng của kỹ thuật Realtime PCR là phát hiện sản phẩm khuếch đại trong quá trình chạy PCR khi sản phẩm khuếch đại từ cADN đích được nhân bản đạt đủ số lượng làm cho ống phản ứng phát huỳnh quang khi nhận được nguồn sáng kích thích. Chính nhờ đặc trưng này mà người làm xét nghiệm có thể biết được mẫu ban đầu có chứa tác nhân

8. Nguyên vật liệu và trang thiết bị

8.1. Điều kiện bảo quản

8.1.1. Hóa chất và sinh phẩm

- Hóa chất sinh phẩm sử dụng trong phản ứng sinh học phân tử phải được bảo quản theo khuyến cáo của nhà sản xuất để đảm bảo tính ổn định của hóa chất/sinh phẩm
- Khi sử dụng sinh phẩm cho pha chế, phải luôn được giữ lạnh và cất lại ngay sau khi dùng xong.

8.1.2. Dụng cụ tiêu hao và trang thiết bị

- Dụng cụ tiêu hao trong phòng thí nghiệm được bảo quản luôn thông thoáng. Khi sử dụng sẽ được ghi chép thông tin trong biểu mẫu phiếu theo dõi vật tư mã số: QL04-QT02-BM03
- Trang thiết bị trong phòng thí nghiệm được bảo quản và vận hành trong khoảng nhiệt độ từ $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$, độ ẩm từ 45-90%.

8.2. Mẫu bệnh phẩm:

- Dịch tách chiết ARN từ mẫu máu toàn phần/huyết tương/huyết thanh theo quy trình tách chiết ARN (NV05-VR-QT5.5.02)

8.3. Hóa chất và sinh phẩm

- SuperScrip™III Platium One-Step: sinh phẩm dùng trong phản ứng realtime RT-PCR

+ SuperScript™III RT/Platinum Taq Mix (100ul)

+ 2x Reaction mix (chứa 0.4uM mỗi loại dNTP và 6mM MgSO₄)

+ 50mM MgSO₄ (1ml)

+ ROX Reference Dye (100ul)

- Bộ mồi cho phản ứng real-time RT-PCR:

| Mồi và probe | | Tín hiệu huỳnh quang | Trình tự (5'-3') | Chất ức chế phát huỳnh quang | Nồng độ |
|--------------|-------|----------------------|-------------------------------|------------------------------|---------|
| D1 | D1F | | CAA AAG GAA GTC GYG CAA TA | | 100uM |
| | D1C | | CTG AGT GAA TTC TCT CTG CTR | | 100uM |
| | Probe | FAM | CAT GTG GYT GGG AGC RCG C | BHQ1 | 10uM |
| D2 | D2F | | CAG GCT ATG GCA CYG TCA CGA T | | 100uM |
| | D2C | | CCA TYT GCA GCA RCA CCA TCT C | | 100uM |
| | Probe | HEX | CTC YCC RAG AAC GGG CCT CGA | BHQ1 | 10uM |
| D3 | D3F | | GGA CTR GAC ACA CGC ACC CA | | 100uM |
| | D3C | | CAT GTC TCT ACC TTC TCG ACT | | 100uM |
| | Probe | Texas | ACC TGG ATG TCG GCT GAA GGA | BHQ2 | 10uM |
| D4 | D4F | | TTG TCC TAA TGA TGC TRG TCG | | 100uM |
| | D4C | | TCC ACC YGA GAC TCC TTC CA | | 100uM |
| | Probe | Cy5 | TYC CTA CYC CTA CGC ATC GCA | 3IAbRQSp | 10uM |

8.3.1. Chứng chuẩn:

- Chứng dương (Positive control – POS): D1-4

- Chứng âm (No Template Control - NTC): sử dụng nước cất để kiểm tra qua trình pha sinh phẩm hóa chất

- Chứng âm tách chiết (Negative Extraction Control – NEC): sử dụng hỗn dịch AVL + ARN carrier để kiểm tra quá trình tách chiết

8.4. Dụng cụ tiêu hao và trang thiết bị

8.4.1. Dụng cụ tiêu hao

- Tube ly tâm 1.5 ml vô trùng

- Tube ly tâm 2.0 ml vô trùng

- Đầu côn lọc: 10; 30; 100; 200 và 1000 µl

- Tube tiệt trùng: 0.2; 0.5 và 1.7 ml

- Giá tích lạnh
- Tube 0,2 ml có nắp dành cho realtime RTPCR

8.4.2. Trang thiết bị

Chỉ sử dụng các trang thiết bị được đóng dấu ISO

- Pipet: Quy trình NV05-VR-QT5.3.11
- Máy lắc: Quy trình NV05-VR-QT5.3.06
- Lò sấy: Quy trình NV05-VR-QT5.3.09
- Cân: Quy trình NV05-VR-QT5.3.03
- Máy luân nhiệt thời gian thực: Quy trình NV05-VR-QT5.3.08
- Máy ly tâm: Quy trình NV05-VR-QT5.3.10
- Tủ an toàn: Quy trình NV05-VR-QT5.3.01
- Tủ lạnh: Quy trình NV05-VR-QT5.3.15

9. Kiểm soát chất lượng

9.1. Yếu tố ảnh hưởng

- Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm như: lấy bệnh phẩm, chuẩn bị bệnh phẩm, thuốc thử, hiệu chuẩn thiết bị, điều kiện môi trường, tay nghề của nhân viên ...

- Nhằm hạn chế và nâng cao chất lượng xét nghiệm, các thủ tục và quy trình đều được hướng dẫn trực tiếp cho nhân viên xét nghiệm đồng thời hóa chất thuốc thử đều được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất và vẫn còn hạn sử dụng.

9.2. Kiểm soát nguyên vật liệu và trang thiết bị

- Nguyên vật liệu và trang thiết bị đóng vai trò quan trọng trong công tác xét nghiệm, vì vậy vật liệu và thiết bị sử dụng trong xét nghiệm phải được bảo quản tối ưu theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

- Các tủ 4⁰C hoặc tủ -20⁰C chứa hóa chất, sinh phẩm phải được theo dõi hàng ngày; trang thiết bị phải được đảm bảo điều kiện độ ẩm thoáng khí, nhiệt độ <30⁰C và độ ẩm <90%.

9.3. Kiểm soát mẫu bệnh phẩm

- Loại mẫu: huyết thanh, máu toàn phần, dịch não tủy, dịch báng....
- Điều kiện bảo quản: bảo quản lạnh

- Bảo quản tại nơi lấy mẫu: bảo quản bệnh phẩm tại nơi lấy mẫu từ 2°C - 8°C, trong vòng 3 ngày mẫu sẽ được chuyển tới PTN, trong quá trình vận chuyển đến PTN giữ tại 2°C - 8°C.

- Tiêu chí loại bỏ: không đạt yêu cầu về thu thập, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm.

+ Xem mục 8 trong Sổ tay thu thập bệnh phẩm (NV05-VR-QT5.4.01)

9.4. Kiểm soát mẫu chứng

- Chứng âm:

+ Chứng âm phản ứng (NTC): phải cho kết quả âm tính đối với phương pháp realtime RT-PCR

+ Chứng âm tách chiết (NEC): mẫu tách chiết là mẫu nước cất đã được đánh mã loạt cho việc thực hiện tách chiết và được tách chiết cùng mẫu bệnh phẩm: phải cho kết quả âm tính đối với phương pháp realtime RT-PCR

- Chứng dương: DEN 1-4

| Định tíƣ Dengue | Realtime RT-PCR |
|------------------------|------------------------|
| D1 | Ct < 35 |
| D2 | Ct < 35 |
| D3 | Ct < 35 |
| D4 | Ct < 35 |

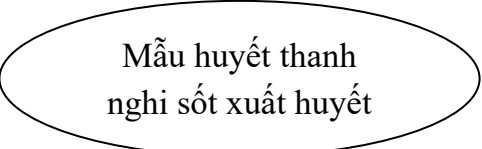
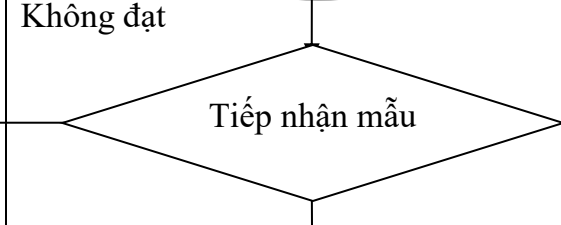
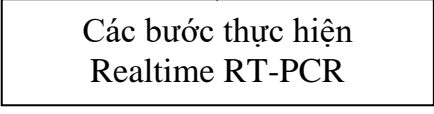
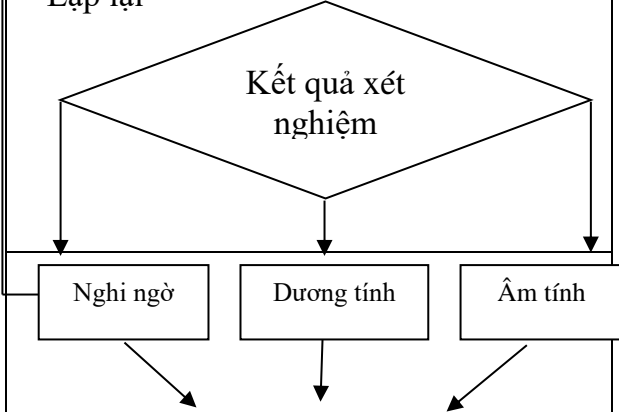
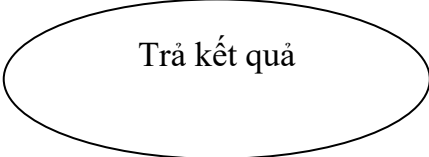
9.5. Chương trình ngoại kiểm

– Tham gia chương trình ngoại kiểm hàng năm và tuân thủ tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế thế giới (WHO).

– Tham gia đánh giá liên phòng thí nghiệm với trường Đại học Nagasaki- Nhật Bản.

10. Nội dung

10.1. Lưu đồ

| Bước | Trách nhiệm | Trình tự thực hiện | Tài liệu |
|------|---|---|----------------------------|
| 1 | Khách hàng |  | NV05-VR-STLM |
| 2 | Khách hàng Nhân viên PXN | <p>Không đạt</p>  | NV05-VR- QT5.1.01 |
| 3 | Nhân viên PXN |  | NV05- VR01- QT5.5.03 |
| 4 | Nhân viên PXN | <p>Lặp lại</p>  | NV05- VR01- QT5.5.03 |
| 5 | Nhân viên PXN, Trưởng phòng xét nghiệm, Lãnh đạo Viện |  | NV05- QT5.8.01 |

10.2. Các bước thực hiện

10.2.1. Quy trình trước xét nghiệm

10.2.1.1. Sỏ tay thu thập bệnh phẩm

- Sổ tay thu thập bệnh phẩm mã số NV05-VR-QT5.4.01
- + Danh mục xét nghiệm: mục 8.3
- + Đóng gói bệnh phẩm: mục 8.4
- + Tiêu chuẩn chấp nhận/từ chối bệnh phẩm: mục 8.7
- + Yêu cầu xét nghiệm bổ xung: mục 8.8
- + Xử lý dụng cụ chất thải: mục 9
- Phiếu yêu cầu xét nghiệm: mã số NV05-VR-5.4.01-BM.01 hoặc NV05-VR-5.4.01-BM02
- Hướng dẫn điền phiếu yêu cầu xét nghiệm: mã số NV05-VR-5.4.01-BM.01-HD

10.2.1.2. Tiếp nhận hoặc từ chối mẫu ban đầu

- PTN vi rút arbo tuân thủ quy định các tiêu chuẩn chấp nhận hoặc từ chối mẫu ban đầu trong sổ tay thu thập bệnh phẩm (NV05-VR-QT5.4.01)
- Nhân viên PTN vi rút arbo kiểm tra tình trạng mẫu, các văn bản, thông tin liên quan (ví dụ: phiếu yêu cầu xét nghiệm) và quyết định chấp nhận/từ chối mẫu.
- Nếu tiếp nhận mẫu, nhân viên PTN vi rút arbo phải điền thông tin mẫu vào sổ nhận mẫu mã số NV05-VR-QT5.4.02-BM.01. Nếu từ chối nhận mẫu bệnh phẩm, nhân viên PTN vi rút arbo phải thông báo rõ lý do cho đơn vị gửi mẫu và tuân thủ các quy định về tiêu huỷ mẫu.
- PTN vi rút arbo không tiếp nhận mẫu ban đầu thiếu thông tin nhận dạng ngoại trừ một số trường hợp mẫu quan trọng, không thể thay thế. Trong trường hợp này, PTN có thể tạm thời tiếp nhận và tiến hành xét nghiệm mẫu. Tuy nhiên, chỉ công bố kết quả xét nghiệm khi đã nhận đủ thông tin nhận dạng mẫu.

10.2.2. Quy trình xét nghiệm

10.2.2.1. Pha chế hóa chất/sinh phẩm

- Mã hóa loạt pha chế

| Loại pha | Ký hiệu |
|---|---------|
| Cặp mồi | pri |
| Đoạn dò (Probe) | Pro |
| Sinh phẩm cho phản ứng Real-time RT-PCR | rtn |

- Nhân viên phải ghi lại thông tin khi thực hiện pha chế vào biểu mẫu “Biểu mẫu pha môi Dengue” mã số NV05-VR01-QT5.5.03-BM.01

- Nồng độ môi tính theo đơn vị nmole (ghi trên tube môi đông khô)

- Trả lại nước khử ion theo khuyến cáo của nhà sản xuất để nồng độ môi/mẫu dò đạt 100 μ M

- Nồng độ môi được sử dụng là 100 μ M. Nồng độ mẫu dò sử dụng là 10 μ M sẽ được pha loãng 10 lần từ nồng độ 100 μ M.

- Chia ra các ống có thể tích 50 μ l/1 loại môi (100 μ M) và 100 100 μ l/1 loại mẫu dò (10 μ M) và bảo quản tại -30°C

- Đặt tên cho loạt pha: Loại pha – tên môi – 2 số cuối của năm- số thứ tự pha chế (theo dạng 3 chữ số) – thứ tự số tuýp (theo dạng 2 chữ số)

Ví Dụ: pri.D1F-19.001.01

10.2.2.2. Pha sinh phẩm cho phản ứng Realtime-RT-PCR

- Nhân viên phải ghi lại thông tin khi thực hiện pha chế vào biểu mẫu “Pha hỗn dịch phản ứng realtime RT-PCR Dengue” mã số NV05-VR01-QT5.5.01-BM.02

| Sinh phẩm | | Nồng độ | Thể tích (ul)/1 pr | Số lượng phản ứng (N) | |
|-------------------------------------|----|---------|--------------------|-----------------------|---------|
| Nước cất tinh sạch | | | 3.7 | | |
| 2x Reaction mix | | | 12.5 | 12.5xN | |
| Superscript III RT/Platinum Taq Mix | | | 0.5 | 0.5xN | |
| Probe và cặp môi | D1 | D1 F | 100uM | 0.25 | 0.25xN |
| | | D1C | | 0.25 | 0.25xN |
| | | Probe | 10uM | 0.45 | 0.45xN |
| | D2 | D2 F | 100uM | 0.125 | 0.125xN |
| | | D2 C | | 0.125 | 0.125xN |
| | | Probe | 10uM | 0.45 | 0.45xN |
| | D3 | D3 F | 100uM | 0.25 | 0.25xN |
| | | D3 C | | 0.25 | 0.25xN |
| | | Probe | 10uM | 0.45 | 0.45xN |
| | D4 | D4 F | 100uM | 0.125 | 0.125xN |
| | | D4C | | 0.125 | 0.125xN |
| | | Probe | 10uM | 0.45 | 0.25xN |

| | | | |
|---------|--|----|--|
| ARN mẫu | | 5 | |
| Tổng số | | 25 | |

- Đặt tên cho loạt pha: Loại pha, loại pha– năm.tháng.ngày pha chế (theo dạng 2 số cuối của năm, 2 số của tháng và 2 số của ngày) – thứ tự lần pha trong ngày (theo bảng chữ cái A, B, C...)

VÍ Dụ: rtm.Den-19.10.01A

10.2.2.3. Cài đặt thiết bị

- Cài đặt chương trình cho máy Realtime PCR

- Hướng dẫn cài đặt thiết bị xem NV05-VR-QT5.3.08

| | Nhiệt độ (°C) | Thời gian | Chu kỳ lặp | Tên chương trình |
|-------------------|---------------------------------|-------------|------------|------------------|
| Dengue 1-4 | 50 | 30:00 | x 1 | Den 1-4.CDC |
| | 95 | 2:00 | | |
| | 95 | 0:10 | } x 45 | |
| | 60 | 0:30 | | |
| | Thu tín hiệu huỳnh quang | | | |
| 10 | ∞ | | | |

10.2.2.4. Tra mẫu và chạy máy

- Chuẩn bị biểu mẫu “Pha hỗn dịch phản ứng realtime RT-PCR Dengue” mã số NV05-VR01-QT5.5.01-BM.02

- Cho 5µl mẫu RNA bệnh phẩm vào tube chứa hỗn hợp phản ứng realtime RT-PCR, ly tâm nhanh và giữ trong giá tích lạnh.

- Khi tra mẫu phải nhập mã số mẫu vào sơ đồ vị trí khung 96 giếng (xem Phụ lục)

Chú ý: Nếu chưa chạy ngay thì nên giữ tube ở điều kiện 4°C.

- Đặt các tuýp vào máy, khởi động chương trình theo yêu cầu xét nghiệm. Tạo tên tệp và lưu giữ dữ liệu. (NV05-VR-QT5.3.08)

- Ghi chép mã thiết bị sử dụng, ngày sử dụng vào (NV05-VR-QT5.3.03-BM02).

11. Kết quả và biện luận

- Kết quả chỉ đọc được khi:

+ Chứng âm: không có tín hiệu huỳnh quang.

- + Chứng âm tách chiết: không có tín hiệu huỳnh quang.
- Mẫu dương tính: tín hiệu huỳnh quang được thu nhận trước hoặc tại chu kỳ thứ 38 của phản ứng.
- Mẫu âm tính: tín hiệu huỳnh quang được thu nhận sau chu kỳ thứ 38.
- Nếu trong trường hợp phương pháp Realtime RT - PCR cho kết quả không rõ thì mẫu bệnh phẩm này sẽ được lặp lại từ bước tách chiết mẫu; hoặc PTN có thể yêu cầu lấy lại bệnh phẩm và xét nghiệm theo thường quy của phòng từ bước nhận bệnh phẩm.
- Hoàn thành kết quả chẩn đoán sốt Dengue theo Biểu mẫu kết quả xét nghiệm cho phương pháp Realtime RT-PCR Dengue (NV05-VR01-QT5.5.03-BM03).
- Nhập kết quả xét nghiệm vào sổ theo dõi người bệnh (NV05-VR-QT5.4.02-BM01).
- Nhập kết quả vào máy tính chương trình Excel theo định dạng mẫu và gửi file kết quả cho trưởng PTN, sau khi trưởng PTN đối chiếu kết quả, kết quả được cập nhật vào file tổng hợp.
- Cán bộ được phân công nhập kết quả xét nghiệm vào phiếu trả lời kết quả NV05-QT5.8.01-BM01 theo quy trình trả kết quả xét nghiệm NV05-QT5.8.01.

12. Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải

12.1. Xử lý mẫu

12.1.1. Lưu giữ, bảo quản

- Mẫu bệnh phẩm sau khi xét nghiệm sẽ được lưu giữ tại PTN vi rút arbo
- Xem quy trình lưu giữ mẫu sau xét nghiệm (NV05-QT5.7.01)

| Mẫu | Điều kiện | Thời gian lưu (sau khi trả kết quả) |
|------------|------------------|---|
| Bệnh phẩm | -80°C | 10 năm |
| RNA vi rút | -20°C hoặc -80°C | 02 năm |

- Tùy theo tình hình thực tế của PTN mà có thể lưu giữ hoặc hủy mẫu sớm hay muộn hơn thời gian quy định.

12.1.2. Hủy mẫu

- Mẫu bệnh phẩm hết thời gian bảo quản hoặc không dùng trong xét nghiệm sẽ được

hủy theo tiêu chuẩn an toàn sinh học của luật sở tại (trong nước/nội bộ) và theo hệ thống quản lý chất lượng.

Xem quy trình tiêu hủy bệnh phẩm (NV05-QT5.7.01)

12.2. Xử lý dụng cụ/chất thải sau xét nghiệm

Xem hướng dẫn phân loại và xử lý chất thải mục 8.3 (STAT)

13. Phụ lục và biểu mẫu

| Stt | Tên phụ lục, biểu mẫu | Mã số |
|-----|--|------------------------|
| 1 | Biểu mẫu pha môi realtime RT-PCR Dengue | NV05-VR01-QT5.5.3-BM01 |
| 2 | Biểu mẫu pha sinh phẩm Realtime RT-PCR Dengue | NV05-VR01-QT5.5.3-BM02 |
| 3 | Biểu mẫu kết quả xét nghiệm realtime RT-PCR Dengue | NV05-VR01-QT5.5.3-BM03 |
| 4 | Biểu mẫu tách chiết ARN từ mẫu bệnh phẩm | NV05-VR-QT5.5.02-BM01 |

14. Hồ sơ

| Stt | Tên hồ sơ | Đơn vị lưu trữ | Hình thức lưu | Thời gian lưu |
|-----|---------------------------------------|----------------|-----------------|---------------|
| 1 | Hồ sơ phiếu yêu cầu xét nghiệm | PTN Arbo | Văn bản | 5 năm |
| | | | Điện tử | 10 năm |
| 2 | Hồ sơ xét nghiệm | PTN Arbo | Văn bản | 5 năm |
| | | | Điện tử | 10 năm |
| 3 | Hồ sơ phiếu trả kết quả xét nghiệm | PTN Arbo | Văn bản | 5 năm |
| | | | Điện tử | 10 năm |
| 4 | Hồ sơ theo dõi trả kết quả xét nghiệm | PTN Arbo | Văn bản/điện tử | 5 năm |
| 5 | Sổ theo dõi người bệnh | PTN Arbo | Văn bản | 5 năm |
| | | | Điện tử | 10 năm |

15. Tài liệu tham khảo

- QIAGEN One Step RT-PCR Kit Handbook, 2002
- SuperScript III Platinum One-Step QUantitative RT-PCR system

- Molecular Virology and reference Laboratory. Realtime RT-PCR for detection and serotype identification of dengue virus, 2011.
- Application of Reverse Transcriptase – Polymerase chain reaction (RT-PCR) to detection of arboviruses, diagnosis of arbovirus infection and research.
- Rapid Detection and typing of Dengue Viruses from clinical samples by using Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction.
- Typing of Dengue viruses in clinical Specimens and Mosquitoes by Single –Tube Multiplex Reverse Transcriptase PCR.
- Thông tư số 53/2017/TT-BYT quy định thời hạn bảo quản hồ sơ, tài liệu chuyên môn nghiệp vụ ngành y tế ban hành ngày 29/12/2017.

QUY TRÌNH CHẨN ĐOÁN HSV

- Chất lượng của sinh phẩm: Sinh phẩm được sử dụng trong nghiên cứu này là sinh phẩm chuẩn thức, đã được thương mại hóa, có thương quy chuẩn thức và cụ thể của nhà sản xuất. Sinh phẩm được đặt mua từ những nhà cung cấp có uy tín trên Thế giới, với sinh phẩm tách chiết ADN là Qiagen (Đức), với sinh phẩm cho phản ứng khuếch đại gen là Applied Biosystems, với vật liệu tiêu hao như đầu côn lọc và tube nhựa là AB gene, Corning, và Eppendorf, tất cả đều đạt tiêu chuẩn Quốc tế.
- Trang thiết bị máy móc : Chúng tôi sử dụng những trang thiết bị máy móc của các nhà cung cấp máy móc có uy tín như máy ly tâm lạnh tốc độ cao của Hettich, máy khuếch đại gen AB Applied Biosystems 7500.
- Chứng dương được sản xuất theo trình tự chuẩn : từ PCR cổ điển, tạo dòng để có được plasmid tái tổ hợp, biến nạp vào hệ thống E.coli, tách chiết plasmid và tính toán cụ thể dựa vào cấu trúc ADN để có được chính xác số lượng bản sao ADN HSV trong một đơn vị thể tích khuôn mẫu phản ứng.

Thường quy thực hiện thử nghiệm là của phòng thí nghiệm hay đã được chuẩn thức hóa và thương mại hóa: Khu vực ổn định nhất của gen UL30 là khu vực đích cần khuếch đại, vì mục tiêu của đề tài là phát hiện tỷ lệ có mặt ADN HSV-1 và -2 trong dịch não tủy của người bệnh viêm não và viêm màng não, vừa góp phần giúp bác sỹ lâm sàng điều trị cho người bệnh, vừa giúp nhà hoạch định chính sách trong xây dựng phác đồ giám sát và điều trị viêm não, viêm màng não do HSV, đoạn gen đích cần khuếch đại này vừa có tính ổn định, vừa chung cho cả HSV-1 và HSV-2 nên giúp làm giảm cả kinh phí và thời gian trong chẩn đoán HSV, giúp phản ứng kịp thời cho điều trị.

Trên thực tế, phác đồ điều trị 2 típ HSV là hoàn toàn giống nhau nên việc phân biệt típ HSV không có nhiều ý nghĩa trong điều trị như trong nghiên cứu. Cập mỗi đặc hiệu và đầu dò này không phải là do phòng thí nghiệm tìm ra và áp dụng lần đầu mà là ứng dụng kết quả nghiên cứu của một trong số những tác giả có kinh nghiệm

nổi tiếng nhất trong lĩnh vực này là Kessler và cộng sự, kết quả nghiên cứu này cũng đã được đăng tải trong những tạp chí và những đầu sách có uy tín là “J Clin Microbiol 38, 2638-42 (2000)” và “real-time PCR” (2000). Một điều nữa để chứng minh tính tin cậy của cặp môi và đầu dò đặc hiệu này là có rất nhiều tác giả, cơ sở nghiên cứu, bệnh viện lâm sàng danh tiếng (của Hoa kỳ và Cộng hòa Pháp, Hà Lan...) đã và đang áp dụng chúng cho những nghiên cứu và công tác chẩn đoán phòng thí nghiệm của mình. Độ đặc hiệu của phản ứng được đánh giá bằng các nghiên cứu trước đây, độ nhạy của phản ứng được đánh giá qua gam chuẩn ngoài. Cặp môi và đầu dò khuếch đại đoạn gen đích thuộc khu vực ổn định của ADN polymerase, một gen chỉ có mặt khi vi rút hoạt động nên có tính kháng định vai trò gây bệnh của HSV.

Chi tiết:

1. Quy trình: Tách chiết ADN vi rút theo thường quy của bộ sinh phẩm bằng phương pháp ly tâm.

Bước 1. Bật máy ly tâm Hettich trước khi tách chiết 15 phút;

Bước 2. Lấy từ tủ -30°C ống Eppendorf đã có sẵn 20 µl dung dịch PK, chuẩn bị 1 ống cho 1 mẫu bệnh phẩm, làm tan nhanh dung dịch PK. Đánh dấu ống theo ký hiệu mẫu;

Bước 3. Thêm 200 µl bệnh phẩm cần tách chiết (dịch bọt nước, dịch mắt, dịch não tủy...);

Bước 4. Thêm 200 µl dung dịch đệm AL. Trộn đều bằng máy lắc trong 15 giây;

** Chú ý: Nếu bệnh phẩm ít hơn 200 µl thì thêm đệm PBS vừa đủ 200 µl, nếu bệnh phẩm nhiều hơn 200 µl thì tăng lượng PK và đệm AL theo tỷ lệ tương ứng. Không thêm trực tiếp PK vào đệm AL.*

Bước 4. Ủ ống 10 phút ở 56°C;

Bước 5. Ly tâm nhẹ;

Bước 6. Thêm 200 µl ethanol 96-100%, lắc đều 15 giây và ly tâm nhẹ. Tổng thể tích trong ống Eppendorf là $20 + 200 + 200 + 200 = 620\mu\text{l}$;

** Chú ý: Nếu bệnh phẩm nhiều hơn 140 µl thì tăng lượng ethanol theo tỷ lệ tương*

ứng.

Bước 7. Bóc cột lọc và ghi ký hiệu mẫu (nắp và thành ống);

Bước 8. Cẩn thận chuyển toàn bộ 620 μ l sang cột lọc đã ghi số mẫu (nắp và thành ống) và ly tâm cột 8000 vòng/phút x 1 phút, bỏ dịch trong ống hứng, giữ lại cột lọc;

Bước 9. Đặt cột lọc vào một ống hứng sạch và thêm 500 μ l dung dịch rửa AW1, ly tâm cột 8000 vòng/phút x 1 phút, bỏ dịch trong ống hứng, giữ lại cột lọc;

* *Chú ý: Dù bệnh phẩm nhiều hơn 200 μ l cũng không cần thiết phải tăng lượng AW1.*

Bước 10. Đặt cột lọc vào một ống hứng sạch và thêm 500 μ l dung dịch rửa AW2, ly tâm cột 14.000 vòng/phút x 3 phút, bỏ dịch trong ống hứng, giữ lại cột lọc;

Bước 11. Đặt cột lọc vào một ống hứng sạch và ly tâm cột 14.000 vòng/phút x 1 phút, bỏ ống hứng, giữ lại cột lọc;

Bước 13. Đặt cột lọc vào một ống Eppendorf 1,5ml sạch, tách ADN từ cột lọc bằng thêm 200 μ l dung dịch đệm AE (nếu bệnh phẩm là dịch mắt hoặc dịch não tủy thì thêm 50 μ l dung dịch đệm AE), để ở nhiệt độ phòng thí nghiệm 1 phút và ly tâm 8000 vòng/phút x 1 phút. Bỏ cột lọc, bảo quản ADN trong ở -20°C hoặc -80°C.

2. Quy trình real-time PCR:

Bước 1. Pha hỗn dịch phản ứng (mix) và cho mẫu dưới hốt sinh học phân tử :

| Thành phần | N=1 (μ l) | N=... |
|------------------|----------------|-------|
| Master mix x 2 | 12,5 | |
| Mồi xuôi | 1 | |
| Mồi ngược | 1 | |
| Đầu dò | 0,5 | |
| H ₂ O | 5 | |
| Khuôn mẫu | 5 | |
| Tổng số | 25 | |

Bước 2. Xẽ hỗn dịch phản ứng vào các ống phản ứng

- Cho vào mỗi ống phản ứng 20 μ l;
- Cho mẫu và chúng;
- Chuyển các ống mẫu sang buồng chạy máy (Real-time).

Bước 3. Chạy máy

- Chọn chương trình ***HSV***;
- Cho mẫu vào máy;
- Nhấn vào "***Start***" để chương trình bắt đầu chạy;
- Lưu thông tin trên máy./.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VI RÚT ĐƯỜNG RUỘT

1. Mẫu bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm bao gồm mẫu phân và dịch não tủy. Mẫu bệnh phẩm được xem là hợp lệ và được PTN VRĐR chấp nhận để làm các xét nghiệm chẩn đoán VRĐR khi có phiếu điều tra được điền đầy đủ thông tin đi kèm.

2. Phương pháp xử lý mẫu bệnh phẩm

Mẫu phân: chuẩn bị hỗn dịch mẫu phân 20% trong môi trường PBS (+), xử lý cloroform trong 20 phút, ly tâm thu dịch nổi. Mẫu dịch não tủy: sử dụng trực tiếp không qua xử lý. Mẫu bệnh phẩm đã xử lý sẽ được bảo quản tại -20°C và -80°C cho các thí nghiệm tiếp theo. Các giai đoạn thao tác với mẫu bệnh phẩm đều phải được thực hiện trong tủ ATSH cấp 2, phòng thí nghiệm ATSH cấp 2.

3. Tách chiết vật liệu di truyền RNA của vi rút:

ARN của vi rút sẽ được tách chiết từ dịch nổi bệnh phẩm phẩm đã xử lý hoặc từ dịch não tủy, sử dụng bộ sinh phẩm tách chiết thương mại High Pure Viral RNA Kit (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA). Các bước tiến hành thực hiện theo quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất. ARN thu được sẽ được bảo quản ở -30°C và -80°C cho các nghiên cứu tiếp theo.

4. Xác định VRĐR chung, EV-A71, CV-A6, CV-A10 và CV-A16 bằng kỹ thuật RT-PCR đơn và đa môi

Phương pháp này cho phép xác định VRĐR chung và định danh bốn kiểu VRĐR lưu hành nổi trội gây bệnh TCM gồm EV-A71, CV-A6, CV-A10 và CV-A16. Phản ứng RT-PCR sử dụng cặp môi được thiết kế trên vùng gen không mã hóa 5'-UTR, đặc hiệu chung cho các VRĐR được sử dụng để xác định mẫu dương tính hoặc âm tính với VRĐR. Mẫu được xác định bốn tác nhân EV-A71, CV-A6, CV-A10 và CV-A16 bằng phản ứng RT-PCR đa môi (multi-primer RT-PCR), gồm hai phản ứng riêng lẻ: (1) phản ứng RT-PCR thứ nhất sử dụng bộ môi phát hiện vật liệu di truyền cho EV-A71 và CV-A6; (2) phản ứng thứ hai sử dụng bộ môi phát hiện CV-A10 và

CV-A16. Các cặp mồi đều được thiết kế trên vùng VP1, mang tính đặc hiệu cho từng kiểu vi rút.

Trình tự thực hiện các phản ứng như sau: DNA bổ sung (cDNA) được tổng hợp từ RNA, sử dụng mồi ngẫu nhiên của nhà sản xuất và bổ sung một hỗn hợp phản ứng phiên mã ngược có chứa 20 mM dNTP và 20 U/ml enzyme phiên mã ngược SuperScript™ III transcriptase để tạo nên một khối lượng cuối cùng của 20 µl. cDNA được tổng hợp theo các điều kiện nhiệt độ: 25°C trong 5 phút; 42°C trong 60 phút; 70°C trong 15 phút. cDNA tiếp tục được sử dụng cho các phản ứng PCR để phát hiện VRĐR chung và hai phản ứng PCR đa mồi để phát hiện EV-A7, CV-A6, CV-A10, và CV-A16). Mỗi phản ứng bao gồm 5µl cDNA, 0,6 µM mồi đặc hiệu vi rút cần phát hiện và 12,5µl GoTaq® Green Master Mix System (Promega), tổng thể tích phản ứng là 25 µl. Chạy phản ứng tại máy luân nhiệt theo các chu kỳ sau: 95°C/5 phút, tiếp theo là 50 chu kỳ PCR ở 94°C/1 min; 45°C/2 phút; 72°C/3 phút; và một chu kỳ cuối cùng ở 72°C/8 phút. Các sản phẩm PCR đặc hiệu được xác định bằng điện di trên thạch 2%.

5. Định danh các VRĐR khác bằng phương pháp snRT-PCR/sequencing

Các mẫu dương tính với VRĐR nhưng âm tính với EV-A71, CV-A6, CV-A10 và CV-A16 sẽ được tiếp tục định danh bằng phương pháp snRT-PCR/sequencing vùng gen VP1. Các VRĐR khác này bao gồm các vi rút Coxsackie nhóm A khác, vi rút Coxsackie B, vi rút ECHO và các VRĐR mới phát hiện... Quy trình xét nghiệm như sau: cDNA được tổng hợp sử dụng bộ mồi ngược đặc hiệu VRĐR, AN32-AN35. cDNA được sử dụng cho phản ứng PCR 1 với cặp mồi SO222/SO224 chung cho các VRĐR được thiết kế trên vùng VP1 tạo sản phẩm PCR khoảng 700 bp. Phản ứng PCR 2 sử dụng cặp mồi thiết kế bên trong vùng khuếch đại của PCR 1, cặp mồi AN88/AN89, tạo sản phẩm PCR dài khoảng 350 bp. Sản phẩm PCR được điện di để xác định sau đó được tinh sạch và thực hiện phản ứng PCR gắn huỳnh quang sử dụng một mồi. Sản phẩm gắn huỳnh quang được tinh sạch khỏi chất nhuộm còn thừa và được giải trình tự chuỗi nucleotide bằng máy ABI 3100-Avant. Các trình tự quang

phổ được lắp đặt bằng phần mềm Sequencer, kết nối trình tự được thực hiện bằng chương trình Lasergene 8 (DNASTar, Inc. Madison, WI, USA). Các trình tự gen thu được sẽ được tiến hành định danh trên trang web phân tích tự động thiết kế cho vi rút đường ruột của RIVM (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/enterovirus/>).