

Khảo nghiệm hiệu quả kháng khuẩn của gel rửa tay nano bạc và dung dịch sát khuẩn clohexidin

Lê Khánh Trúc Diễm*, Nguyễn Đan Vy, Đặng Thị Thu Hiền
Vũ Thị Kim Phượng, Vũ Thị Hải Linh, Vũ Đoàn Huy, Trần Việt Hùng
Viện Kiểm nghiệm Thuốc thành phố Hồ Chí Minh

Summary

A comparison on antimicrobial effect of a hand gel containing nano-silver and 70% ethanol and an antiseptic solution containing chlorhexidine and 70% ethanol was performed on two models. The first was quantitative comparison before and after exposing strains of *E. coli*, *Salmonella*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans* and *A. brasiliensis* to two investigated products. The second was conducted on the hands of 25 volunteers by comparing the amount of microorganisms on the hands of them before and after using the two products above to wash their hands. The results showed that, the antiseptic solution of chlorhexidine 0,5 % had a stronger resistance effect to *Salmonella* and *S. aureus*. On the remaining strains, the two products had the same resistance effect. For the survey on actual use of the product on the hands of volunteers, both products have similar bactericidal effects.

Keywords: Nano-silver, antiseptic solution.

Đặt vấn đề

Mỗi ngày chúng ta đều phải tiếp xúc với những đồ vật có nguy cơ chứa các tác nhân gây bệnh (virus, vi khuẩn, vi nấm...) mà không hề hay biết như tay nắm cửa, nút điều khiển thang máy, công tắc đèn hoặc bắt tay người khác... Bàn tay thường cũng là nơi trực tiếp tiếp xúc nhiều với dịch tiết cơ thể. Virus gây bệnh có thể theo dịch tiết lan rộng ngoài cộng đồng khi chúng ta vô tình đưa tay lên mắt, mũi, miệng hay chạm vào người hoặc vật khác. Trong tình hình đại dịch hoành hành trên toàn thế giới như hiện nay, một trong những biện pháp đơn giản, kinh tế, dễ thực hiện, nhưng lại rất quan trọng và hiệu quả để phòng tránh bệnh lây lan là rửa tay thường xuyên bằng xà phòng và nước sạch, dung dịch cồn y tế chứa ít nhất 60% ethanol, hoặc sử dụng dung dịch sát khuẩn có chứa ít nhất 60% ethanol. Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) khuyến cáo người dân rửa tay thường xuyên với xà bông/xà phòng/nước rửa tay... có thể giảm được 44% sự lây truyền các bệnh hô hấp. Bên cạnh các sản phẩm vệ sinh tay truyền thống, dung dịch rửa tay không dùng nước

có thành phần nano bạc kết hợp ethanol 70 % là một sản phẩm mới, ứng dụng công nghệ nano trong sản xuất. Để đánh giá sản phẩm ứng dụng công nghệ khoa học mới này thực tế có khả năng diệt khuẩn tốt như các loại dung dịch vệ sinh tay quen thuộc trước đây, chúng tôi làm khảo nghiệm so sánh khả năng kháng khuẩn của dung dịch rửa tay có thành phần nano bạc với dung dịch rửa tay có thành phần clohexidin - là một sản phẩm quen thuộc đã được sử dụng từ lâu để sát trùng trong ngành y tế.

Nguyên liệu, đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Thiết bị, dụng cụ, môi trường, chủng vi sinh vật và mẫu thử nghiệm

Thiết bị, dụng cụ: Găng tay vô trùng (loại không có bột talc), pipet, que cấy, tủ an toàn sinh học (Biosafety cabinet), tủ ấm 30 – 35 °C, tủ ấm 20 – 25 °C.

Môi trường

Môi trường Trypticase soy agar (TSA): Casein thủy phân bởi pancreatin 15,0 g, bột đậu tương thủy phân bởi papain 5,0 g, thạch 15,0 g, natri clorid 5,0 g, nước tinh khiết vừa đủ 1000 ml, pH sau khi hấp tiệt trùng 7,3 ± 0,2.

Môi trường Sabouraud dextrose agar (SA): Dextrose 40,0 g, casein thủy phân bởi pancreatin 5,0 g, pepton từ mô động vật 5,0 g, thạch 15,0 g, nước tinh khiết vừa đủ 1000 ml, pH sau khi hấp tiệt trùng 5,6 ± 0,2.

Chịu trách nhiệm: Lê Khánh Trúc Diễm

Email: lekhanh_trucdiem@yahoo.com

Ngày nhận: 08/12/2020

Ngày phản biện: 01/01/2021

Ngày duyệt bài: 25/01/2021

Chủng vi sinh vật (VSV): *E. coli* ATCC 8739, *Salmonella* ATCC14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Mẫu thử nghiệm

Mẫu thử: Gel rửa tay nano bạc Sieusat For Hand, số lô SX: 022020, ngày SX: 03/03/2020, hạn dùng: 03/03/2023 (sản phẩm được phát triển bởi Khoa Nghiên cứu – Phát triển của Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. Hồ Chí Minh. Thành phần sản phẩm: nano silver, ethanol, carbomer, glycerol, triethanolamin, disodium EDTA, tocophenol, perfume, brilliant blue FCF, aqua purificata; sản xuất bởi Công ty Cổ phần Thương mại Dược phẩm Quang Minh)

Mẫu so sánh: Dung dịch rửa tay khô clohexidin 0,5 %, số lô SX: 2920, ngày SX: 16/02/2020, hạn sử dụng: 16/02/23, sản xuất bởi Công ty Traphaco. Thành phần sản phẩm: ethanol 70 %, clohexidin gluconat 0,5 %, glycerin, hương liệu, nước.

Đối tượng nghiên cứu

Mô hình găng tay (in vitro): Mẫu thu từ găng tay đã được nhiễm vi sinh vật nghiên cứu có số lượng khoảng 10^7 CFU/1 găng tay.

Người tình nguyện: 25 mẫu được lấy từ da 1 bàn tay của người tình nguyện. Người tình nguyện được chọn có da tay lành lặn, không có vết thương, cam kết tình nguyện tham gia khảo nghiệm và tuân thủ đúng quy định và yêu cầu của quá trình khảo nghiệm.

Phương pháp nghiên cứu

Mô hình găng tay (in vitro): Dùng 10 ml nước muối sinh lý hòa lượng vi sinh vật có trên găng tay và đếm bằng phương pháp đĩa thạch. Thử nghiệm được lặp lại 6 lần, RSD dưới 3 %.

Người tình nguyện: Mẫu thử nghiệm được lấy bằng phương pháp lấy mẫu *Glove Juice* (Baldini et al., 2001) [1]: Cho người tình nguyện mang găng tay vô khuẩn không có bột talc, cho 10 ml nước muối sinh lý vô khuẩn vào khe hở giữa găng tay và bàn tay, dùng dây thun quấn trên cổ tay của bàn tay đeo găng để cố định găng và tránh trào ngược gây ngoại nhiễm. Người thu mẫu xoa bóp nhẹ nhàng bàn tay, ngón tay để hòa vi sinh vật vào nước muối sinh lý vô trùng. Thu nhận lại nước muối bằng pipet vô khuẩn, 2 ml dung dịch huyền phù được cho vào 2 ống nghiệm vô khuẩn, mỗi ống nghiệm 1 ml. Mẫu được phân tích bằng phương pháp trộn vào môi trường TSA, ủ ở 30 – 35°C để đếm vi khuẩn và SA, ủ ở 20 - 35 °C để đếm vi nấm ngay sau khi lấy hoặc lưu ở nhiệt 4 - 8°C trong 30 phút trước khi phân tích.

Đánh giá kết quả: Sử dụng phần mềm Excel 2013, phân tích phương sai một yếu tố theo ANOVA để đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của sản phẩm trong thử nghiệm trên mô hình găng tay và phân tích phương sai 2 yếu tố không lặp theo ANOVA để đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của sản phẩm ở thử nghiệm trên người tình nguyện.

Kết quả và bàn luận

Thử nghiệm trên mô hình găng tay

So sánh lượng vi sinh vật trước và sau khi tiếp xúc gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 %

Kết quả so sánh lượng vi sinh vật trung bình trước và sau khi tiếp xúc gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 % được ghi trong bảng 1, kết quả phân tích phương sai một yếu tố theo ANOVA từ số liệu khảo nghiệm so sánh lượng vi sinh vật trước và sau khi tiếp xúc gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 % được ghi trong bảng 2.

Bảng 1. Lượng vi sinh vật (VSV) trung bình trước và sau khi tiếp xúc gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 %

STT	Chủng VSV	Lượng VSV trung bình ban đầu (CFU)	Lượng vi VSV trung bình sau khi tiếp xúc gel nano bạc (CFU)	Lượng VSV trung bình sau khi tiếp xúc dung dịch clohexidin 0,5 % (CFU)
1	<i>E. coli</i> ATCC 8379	51.000.000	5.200	4.692
2	<i>Salmonella</i> ATCC 14028	28.500.000	5.917	5.633
3	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	13.500.000	2.525	2.425
4	<i>S. ATCC</i> 6538	33.000.000	6.592	6.025
5	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	63.500.000	5.808	5.917
6	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	23.500.000	2.092	2.167
7	<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	2.750.000	2.092	2.167

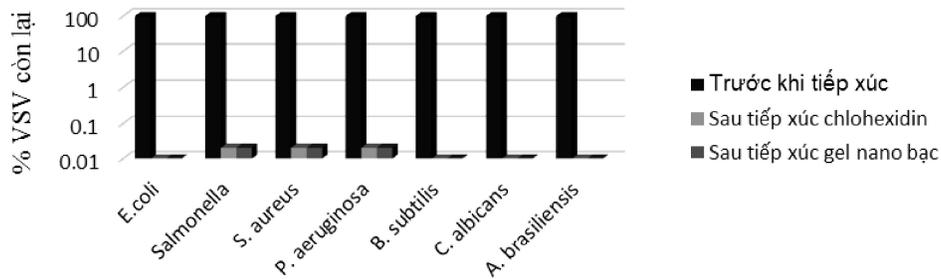
Bảng 2. Kết quả phân tích phương sai một yếu tố theo ANOVA từ số liệu khảo nghiệm so sánh lượng vi sinh vật trước và sau khi tiếp xúc gel nano bạc và dung dịch clohexidid 0,5 %

STT	Chủng VSV	Phân tích phương sai 1 yếu tố theo ANOVA			
		Sau khi tiếp xúc gel nano bạc		Sau khi tiếp xúc clohexidid 0,5 %	
		F	F _{crit}	F	F _{crit}
1	<i>E. coli</i> ATCC 8379	8.880.374.367	6,61	9.888.436.545	6,61
2	<i>Salmonella</i> ATCC 14028	14.599.830.300	6,61	17.998.424.595	6,61
3	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	1.490.748.024	6,61	953.637.675,3	6,61
4	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	18.881.397.140	6,61	3.041.850.887	6,61
5	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	8.761.247.503	6,61	10.084.348.962	6,61
6	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	4.576.369.531	6,61	6.697.215.017	6,61
7	<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	3.976.008.363	6,61	20.466.178.367	6,61

Nhận xét: $F > F_{crit}$, điều đó cho thấy số lượng vi sinh vật sau khi tiếp xúc với gel nano bạc hay dung dịch clohexidid 0,5 % giảm có ý nghĩa so với lượng vi sinh vật trước khi tiếp xúc với gel

nano bạc hay dung dịch clohexidid 0,5 %. Vì vậy, gel nano bạc và dung dịch clohexidid 0,5 % đều có tác dụng diệt các vi sinh vật dùng trong khảo nghiệm.

Biểu đồ 1. So sánh lượng vi sinh vật trước và sau khi tiếp xúc với các chế phẩm rửa tay
Lượng VSV trước và sau khi tiếp xúc các chế phẩm rửa tay



Chủng VSV khảo nghiệm

So sánh tác động giữa gel nano bạc và dung dịch clohexidid 0,5 % đối với vi sinh vật

Kết quả so sánh tác động giữa gel nano bạc và dung dịch clohexidid 0,5 % được ghi trong bảng 3.

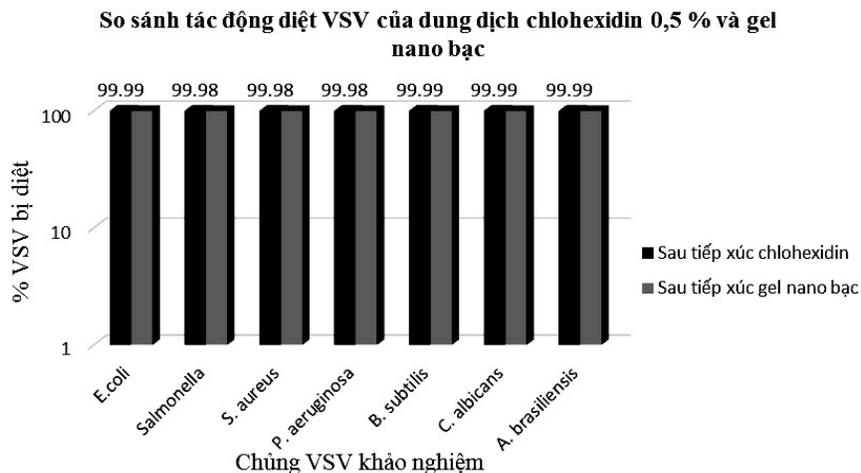
Bảng 3. Bảng kết quả so sánh tác động giữa gel nano bạc và dung dịch clohexidid 0,5 %

STT	Chủng VSV	Phân tích phương sai 1 yếu tố theo ANOVA			
		Lượng VSV trung bình còn lại sau khi tiếp xúc gel nano bạc	Lượng VSV trung bình còn lại sau khi tiếp xúc Clohexidid 0,5 %	F	F _{crit}
		1	<i>E. coli</i> ATCC 8379	5.200	4.692
2	<i>Salmonella</i> ATCC 14028	5.917	5.633	5,58	4,96
3	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	2.525	2.425	0,22	4,96
4	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6.592	6.025	5,41	4,96
5	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	5.808	5.917	0,10	4,96
6	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	2.092	2.167	0,19	4,96
7	<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	2.092	2.167	0,19	4,96

Nhận xét: Đối với *Salmonella* và *Staphylococcus aureus*, $F > F_{crit}$, cho thấy lượng vi sinh vật còn lại sau khi tiếp xúc gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 % khác nhau có ý nghĩa, và dựa trên lượng vi sinh vật còn lại, thấy dung dịch clohexidin 0,5 % có tác dụng

kháng *Salmonella* và *Staphylococcus aureus* mạnh hơn gel nano bạc. Đối với các vi sinh vật còn lại, $F < F_{crit}$ cho thấy gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 % có tác dụng như nhau trên các vi sinh vật này.

Biểu đồ 2. So sánh tác động của dung dịch clohexidin 0,5 % và gel nano bạc lên vi sinh vật



Thử nghiệm trên người tình nguyện

Kết quả thử trên 25 người tình nguyện được ghi trong bảng 4.

Bảng 4. Lượng VSV trên tay người tình nguyện trước và sau khi sử dụng gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 %

Người tình nguyện	Trước khi sử dụng dung dịch sát khuẩn để vệ sinh tay			Sau khi sử dụng gel nano bạc			Sau khi sử dụng dung dịch clohexidin 0,5 %		
	Vi khuẩn hiếu khí (CFU)	Nấm men, nấm mốc (CFU)	Tổng số vi sinh vật (CFU)	Vi khuẩn hiếu khí (CFU)	Vi khuẩn hiếu khí (CFU)	Nấm men, nấm mốc (CFU)	Tổng số vi sinh vật (CFU)	Nấm men, nấm mốc (CFU)	Vi khuẩn hiếu khí (CFU)
TNV1	23.800	34	23.834	5.350	6	5.356	1.180	4	1.184
TNV2	17.850	200	18.050	2.100	16	2.116	445	14	459
TNV3	12.550	400	12.950	1.850	28	1.878	295	0	295
TNV4	5.000	170	5.170	165	3	168	160	7	167
TNV5	4.800	43	4.843	260	6	2.100	145	2	147
TNV6	8.800	150	8.950	1.200	6	1.206	995	7	1.002
TNV7	2.350	275	2.625	380	1	381	470	2	472
TNV8	695.000	45	695.045	36.500	13	36.513	2.900	8	2.908
TNV9	21.900	450	22.350	275	3	278	330	3	333
TNV10	48.500	450	48.950	27	2	29	45	0	45
TNV11	102.000	350	102.350	23	3	25	85	2	87
TNV12	142.000	125	142.125	59	3	61	30	1	31
TNV13	84.000	315	84.315	315	12	327	330	17	347
TNV14	18.400	505	18.905	2.450	20	2.470	2.350	18	2.368
TNV15	6.500	190	6.690	140	3	143	550	17	567
TNV16	15.150	21	15.171	650	5	655	168	4	172

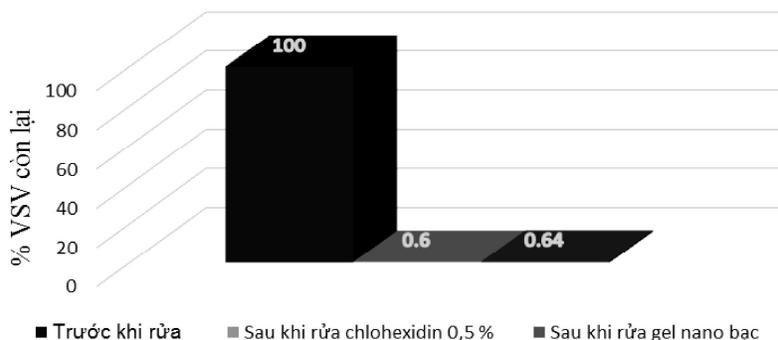
TNV17	2.950	255	3.205	295	3	298	305	5	310
TNV18	5.700	70	5.770	61	2	63	25	3	28
TNV19	9.590	210	9.800	20	4	24	170	6	176
TNV20	4.700	11	4.711	280	0	280	75	3	78
TNV21	3.550	21	3.571	500	5	505	280	1	281
TNV22	1.450	18	1.468	200	0	200	260	3	263
TNV23	5.253	17	5.270	225	3	228	220	1	221
TNV24	195.000	10.300	205.300	74.000	230	74.230	6.050	150	6.200
TNV25	7.100	180	7.280	180	7	187	155	3	158

Bảng 5. Phân tích phương sai 2 yếu tố không lập theo ANOVA để đánh giá lượng VSV trên tay người tình nguyện trước và sau khi sử dụng gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 %

Nguồn sai số	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình của bình phương	F	P-value	F _{crit}
Người tình nguyện	1,85E + 11	24	7,71E + 09	1,24	0,26	1,75
Chế phẩm	5,63E + 10	2	2,82E + 10	4,53	0,02	3,19
Sai số	2,98E + 11	48	6,21E + 09			
Tổng cộng	5,4E + 11	74				

Nhận xét: $F > F_{crit}$: Lượng vi sinh vật trên tay người tình nguyện sau khi sử dụng dung dịch vệ sinh tay giảm có ý nghĩa so với trước khi sử dụng dung dịch vệ sinh tay. Chứng tỏ các dung dịch rửa tay có tác dụng diệt vi sinh vật.

Biểu đồ 3. Lượng vi sinh vật trước và sau khi người tình nguyện sử dụng nước rửa tay
Lượng VSV trước và sau khi dùng nước rửa tay



So sánh hiệu quả kháng vi sinh vật của gel nano bạc với dung dịch clohexidin 0,5% phân tích phương sai 2 yếu tố không lập theo ANOVA để so sánh hiệu quả kháng vi sinh vật của gel nano bạc với dung dịch clohexidin 0,5%.
Từ kết quả thử nghiệm thu được ở bảng 4,

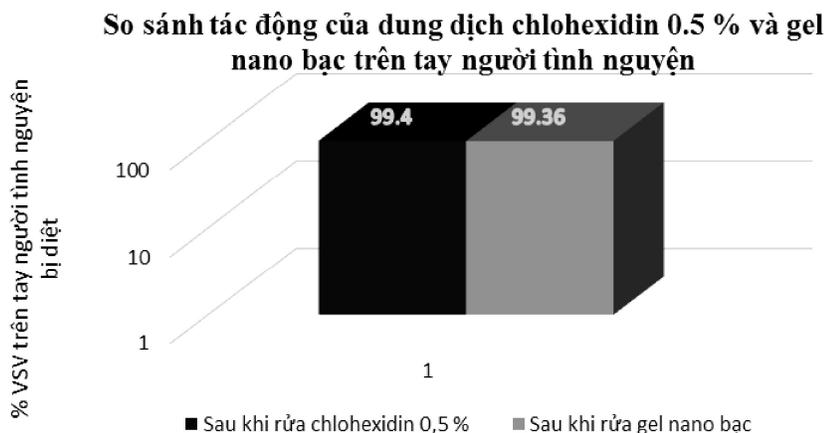
Bảng 6. Phân tích phương sai 2 yếu tố không lập theo ANOVA

Nguồn sai số	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình của bình phương	F	P-value	F _{crit}
Người tình nguyện	3,62E + 09	24	150.807.235,9	1,37	0,22	1,98
Chế phẩm	2,48E + 08	1	248.303.927	2,26	0,15	4,26
Sai số	2,64E + 09	24	110.163.362,6			
Tổng cộng	6,51E + 09	49				

Nhận xét: $F < F_{crit}$: Lượng vi sinh vật còn lại trên tay người tình nguyện sau khi sử dụng gel nano bạc và clohexidin 0,5 % để vệ sinh tay

không khác nhau có ý nghĩa. Vậy gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 % có tác dụng tương đương nhau khi dùng để vệ sinh tay.

Biểu đồ 4. So sánh hiệu quả kháng khuẩn của gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 %



Bàn luận

Trong phương pháp nghiên cứu, mô hình găng tay (*in vitro*) là do nhóm nghiên cứu xây dựng với mục đích kiểm tra khả năng sát khuẩn của sản phẩm trên các vi sinh vật gây bệnh và gây bệnh cơ hội, đồng thời chuẩn hóa được thời gian vi sinh vật tiếp xúc với sản phẩm trong thử nghiệm *in vitro* với thời gian sản phẩm tiếp xúc với vi sinh vật trên tay người khi sử dụng để rửa tay trong thực tế, hơn nữa, phương pháp này còn để đánh giá độ hồi phục của phương pháp lấy mẫu (removal of microorganisms) trước khi thử nghiệm *in vivo*. Khi khảo sát trên người tình nguyện, để thu được kết quả chính xác, cần lưu ý và có biện pháp kiểm soát được việc tình nguyện viên không sử dụng sản phẩm vệ sinh tay nào hay rửa tay trước khi thực hiện việc lấy mẫu. Hai sản phẩm so sánh trong đề tài ở hai dạng khác nhau: một là dung dịch nước, một ở dạng gel, do đó thời gian bay hơi của hai chế phẩm khác nhau. Vì vậy nên so sánh thêm thời gian duy trì độ sạch của tay sau khi sử dụng sản phẩm.

Kết luận

Qua kết quả phân tích thống kê từ số liệu thu được trong quá trình khảo nghiệm, gel nano bạc và dung dịch clohexidin 0,5 % đều có tác động kháng như nhau đối với *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* và *Aspergillus brasiliensis*. Riêng đối với

Salmonella và *Staphylococcus aureus*, dung dịch clohexidin 0,5 % có khả năng kháng mạnh hơn so với gel nano bạc. Khi được sử dụng thực tế trên tay người tình nguyện, gel nano bạc có tác dụng diệt vi sinh vật tương đương với dung dịch clohexidin 0,5 %

Tài liệu tham khảo

- Baldini N. C., Gutman E. L., Keefe E. et al. (2001), "Standard test method for evaluation of health care personel handwash formulation by utilizing fingernail regions", In: American society for testing and materials, Baltimor, MD: *American Society for Testing and Materials*, pp. 599-602.
- Trần Việt Hùng, Đoàn Cao Sơn, Vũ Thị Hạnh Yên, Phan Quốc Hoàn (2016), "Khảo sát tác dụng diệt khuẩn của gel rửa tay nano bạc không dùng nước có chứa ethanol và nano bạc", *Tạp chí Dược học*, số 477 năm 56, tr. 49-51.
- Nguyễn Thị An, Đỗ Thị Vân Anh, Nguyễn Thị Ánh Hồng (2010), "Khảo sát vi sinh trên bàn tay trước và sau khi rửa của nhân viên y tế Bệnh viện Nhi Đồng 2 năm 2010", *Hội nghị Khoa học Kỹ thuật Điều dưỡng mở rộng BV. Nhi Đồng 2 – lần V năm 2010*.