CHẾ TẠO MÀNG TRỊ BỎNG TỪ CELLULOSE CỦA *ACETOBACTER XYLINUM*

● **Huỳnh Thị Ngọc Lan*** ● **Lâm Đan Chi[2]** ● **Chu Anh Tuấn[2]** ● **Nguyễn Văn Thanh[3]**

** Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng*

[2] Viện Bỏng Quốc gia

[3] ĐH Y Dược TP. HCM

TÓM TẮT

Cellulose vi khuẩn (Bacterial Cellulose, viết tắt BC) là sản phẩm của một số loài vi khuẩn, đặc biệt là vi khuẩn Acetobacter xylinum. BC được tạo thành từ Acetobacter xylinum được ứng dụng trong rất nhiều lĩnh vực. Trong y học, BC đã được nghiên cứu dùng làm tá dược, mặt nạ dưỡng da, mạch máu nhân tạo và đặc biệt sử dụng làm màng sinh học trị bỏng. Màng Acetul được chế tạo từ cellulose vi khuẩn phối hợp với hoạt chất tái sinh mô của dầu Mù u và tinh dầu tràm trà Úc. Các hợp chất này đã được sử dụng từ lâu trong dân gian làm thuốc chữa bệnh (dầu mù u, tinh dầu tràm). Màng Acetul được sử dụng che phủ vết thương do khả năng kiểm soát dịch tiết và có thể cung cấp môi trường ẩm thích hợp cho quá trình liền vết thương. Với đặc điểm mỏng, mềm mại, khi đắp vào vết thương màng Acetul bám dính đã làm giảm đau đớn cho bệnh nhân, giảm số lần thay băng, ngăn chặn sự thoát dịch, mất huyết tương, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình biểu mô hoá liền sẹo.

Về hoạt tính sinh học, màng có khả năng làm vết thương mau lành do chứa hoạt chất tái sinh mô từ dầu mù u, có khả năng kháng khuẩn nhờ tác dụng của tinh dầu tràm. Thử lâm sàng giai đoạn 2 màng Acetul tại Viện Bỏng Quốc gia cho kết quả khả quan với tác dụng gần tương đương màng nano bạc là một màng có tính sát khuẩn mạnh. Màng Acetul có tính ổn định trong điều kiện bảo quản ở nhiệt độ phòng, với hạn dùng là 24 tháng, các hoạt chất và các đặc tính của màng vẫn trong tình trạng tốt.

Từ khóa: *bacterial cellulose, wound dressing, Acetobacter xylinum, dầu Mù u, tinh dầu tràm trà Úc*

PREPARATION OF BURN DRESSING FROM CELLUOLOSE OF ACETOBACTER XYLINUM

● **Huynh Thi Ngoc Lan** ● **Lam Dan Chi** ● **Chu Anh Tuan** ● **Nguyen Van Thanh**

ABSTRACT

Bacterial cellulose (abbreviated BC) is the product of several species of bacteria, especially Acetobacter xylinum, which is used in many fields. In medicine, BC has been studied for use as excipients, skin masks, artificial blood vessels and especially used as dressing to treat burns... Acetul dressing is made from bacterial cellulose combined with tissue-regenerating active ingredients of Tamanu oil and Australian tea tree oil. These compounds have been used for a long time in folk medicine (Tamanu oil, Melaleuca oil). Acetul dressing are used to cover wounds due to their ability to control secretions and can provide a moist environment suitable for wound healing. With its thin and soft characteristics, when applied to the wound, the adhesive Acetul dressing has reduced pain

***** Tác giả liên hệ: Huỳnh Thị Ngọc Lan, Email: lanhtn@hiu.vn

(Ngày nhận bài: 12/10/2022; Ngày nhận bản sửa: 29/10/2022; Ngày duyệt đăng: 10/11/2022)

for the patient, reduced the number of dressing changes, prevented fluid drainage, plasma loss, and facilitated the proces. scar epithelialization.In terms of biological activity, the Acetul dressing has the ability to speed up wound healing because it contains tissue-regenerating active ingredients from tamanu oil, which has antibacterial ability thanks to the effect of cajeput essential oil.

The phase 2 clinical trial of Acetul dressing at the National Institute of Burns gave positive results with an effect similar to nano silver wound dressing, a dressing with strong antiseptic properties. Acetul dressing has good covering ability and especially adheres to the wound, helping the wound to heal. Acetul dressing are stable under storage conditions at room temperature, with a shelf life of 24 months, and the active ingredients and dressing properties remain in good condition.

Key words: *bacterial cellulose, wound dressing, Acetobacter xylinum, Tamanu oi, Australian tea tree oil*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Một vết thương mất da hay một tổn thương bỏng sẽ mau lành khi được giữ trong điều kiện thích hợp, nghĩa là cần có một lớp màng bảo vệ vết thương (wound dressing)[1],[2]. Lớp màng bảo vệ sẽ có ý nghĩa rất lớn trong việc giữ cho vết thương tránh khỏi sự nhiễm trùng, có độ ẩm thích hợp, kích thích lành sẹo, bảo vệ những tế bào mới hình thành và quan trọng là hạn chế tình trạng mất nước và chất điện giải liên tục do sự bay hơi từ bề mặt vết thương [3],[4].

Chế tạo màng sinh học cellulose vi khuẩn chứa hoạt chất tái sinh mô từ dầu mù u và tinh dầu tràm trà Úc sử dụng trong điều trị bỏng và vết thương mất da nhằm đáp ứng được các mục tiêu này [5].

Cellulose vi khuẩn là sản phẩm của một số loài vi khuẩn, đặc biệt là vi khuẩn *Acetobacter xylinum*. BC được tạo thành từ *Acetobacter* x*ylinum* có cấu trúc hóa học rất giống cellulose của thực vật nhưng có một số tính chất hóa lý đặc biệt. BC được ứng dụng trong rất nhiều lĩnh vực. Trong lĩnh vực y học, BC được nghiên cứu dùng làm tá dược, mặt nạ dưỡng da, mạch máu nhân tạo và đặc biệt sử dụng làm màng sinh học trị bỏng [6], [7].

Mục tiêu nghiên cứu:

- Chế tạo màng trị bỏng từ cellulose của vi khuẩn *Acetobacter xylinum* phối hợp với hoạt chất tái sinh mô (HCTSM) từ dầu mù u và tinh dầu tràm trà Úc.
- Đánh giá hiệu quả điều trị của màng trị bỏng trên lâm sàng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu và phương pháp nghiên cứu chế tạo màng

- **Chủng vi khuẩn tạo cellulose:** *Acetobacter xylinum.*
- **Chủng vi khuẩn sử dụng trong thử nghiệm sinh học:** *S. aureus ATCC 29213, S. hemolyticus ATCC 29212, P. aeruginosa ATCC 27853, Chủng vi khuẩn ly trích từ bệnh phẩm: MRSA (Methicillin resistant Staphylococcus aureus). S. aureus, P. aeruginosa.*
- **Thú thử nghiệm:** Thỏ trắng mắt đỏ, trọng lượng từ 2,5 kg – 3 kg khỏe mạnh, không dị tật, giới tính ngẫu nhiên. Chuột nhắt trắng chủng DDY, thuần chủng, khỏe mạnh, trọng lượng từ 18 g – 22 g.
- **Nguyên vật liệu thử nghiệm:** Hoạt chất tái sinh mô được chiết từ dầu mù u ép từ hạt cây mù u (*Calophilum inophyllum*). Tinh dầu tràm trà Úc được chiết từ lá cây tràm trà Úc *Melaleuca alternifolia* do Công ty Dược liệu TW 2 cung cấp.
- **Màng đối chứng:** màng URGOTUL của hãng URGO, băng nano bạc *ANSON* của Trung

quốc có chứa bạc dạng nano. Các hóa chất và môi trường nuôi cấy vi sinh đạt tiêu chuẩn phân tích và dược dụng.

- **Phương pháp:**

- ***Nuôi cấy A. xylinum tạo màng cellulose*:** quá trình tạo màng cellulose từ vi khuẩn *A. xylinum* gồm hai giai đoạn: nhân giống vi khuẩn và lên men tạo màng BC thô. Tinh chế màng BC thô, kiểm tra độ tinh khiết của màng nhằm đảm bảo màng BC sau khi xử lý đã được loại các tạp chất. Khảo sát màng BC dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM),

- ***Phương pháp kiểm soát các đặc tính của màng BC tinh chế:***

Phương pháp thử độ bền cơ học: độ bền cơ học của màng được đánh giá qua độ bền kéo kN/m của màng theo phương pháp ASTMD 882 – 02,

Phương pháp khảo sát khả năng cản vi khuẩn của màng BC; Dùng 2 mô hình thử nghiệm. Mô hình 1 khảo sát khả năng cản vi khuẩn, nấm mốc trong không khí và mô hình 2 khảo sát khả năng cản vi khuẩn khi nhỏ trực tiếp vi khuẩn lên màng.

- ***Tạo màng trị bỏng Acetul:*** Chế tạo màng BC phối hợp với hoạt chất tái sinh mô, tinh dầu tràm trà Úc và các tá dược để đáp ứng yêu cầu thể chất mềm, mịn, trắng, trong, bám dính vào da tốt, không bị khô nhanh khi để ngoài không khí, có khả năng che phủ vết thương tốt. Sau đó màng thành phẩm Acetul được tiệt trùng bằng tia bức xạ gamma từ nguồn Cobalt – 60: SVST – Co 60/B. tia gamma. Suất liều: 1,3 kGy / h, liều khử trùng: 25 Kgy / phút.

- ***Các phương pháp kiểm soát tính chất của màng Acetul:***

Phương pháp khảo sát khả năng hút ẩm của màng Acetul: thử nghiệm khả năng hút nước của màng trên những bản thạch bán lỏng chứa 0,2 % thạch. Ở nồng độ này bản thạch chứa hàm lượng nước lớn (99,8 %) và có một bề mặt rất ẩm ướt, gần giống bề mặt vết thương.

Phương pháp khảo sát pH của màng Acetul: dịch chiết màng ở tỷ lệ màng và nước là 1:100 (khối lượng/ thể tích). Đo pH dung dịch ở mỗi bình bằng pH kế.

Định lượng hoạt chất tái sinh mô: tách HCTSM trong màng bằng ether và cân. Tiếp tục định lượng các acid béo bằng phương pháp GC.

Định lượng tinh dầu tràm trà Úc: tinh dầu tràm trà Úc được tách khỏi màng bằng phương pháp cất kéo hơi nước sau đó đo thể tích.

- ***Các phương pháp thử nghiệm sinh học:***

Đánh giá độc tính bán cấp của hoạt chất tái sinh mô trên chuột nhắt trắng chủng DDY dùng thuốc liên tục trong hai tháng. Đánh giá độc tính qua thể trọng, tổng trạng chung, xét nghiệm huyết học và sinh hóa.

Thử tính kích ứng da của hoạt chất tái sinh mô và tinh dầu tràm: Dùng phương pháp thử tính kích ứng của dầu thực vật đối với da trong chuyên đề '*Các phương pháp thử nghiệm sinh học in vivo'* trong USP 28.

Thử nghiệm in vivo tác dụng điều trị vết bỏng của màng Acetul: Gây bỏng bằng nhiệt khô, độ II trên thỏ trắng, mắt đỏ. Tổn thương bỏng độ II được đánh giá bằng quan sát sự phát quang của vết bỏng dưới đèn tử ngoại trong phòng tối sau khi tiêm dung dịch natri fluorescein. Theo dõi tình trạng của vết bỏng trong thời gian điều trị: độ phù nề, hoại tử, nhiễm trùng có mủ hay không. Đánh giá quá trình lành sau những khoảng thời gian và so sánh khả năng điều trị của màng. Dùng phép toán phân tích thống kê, so sánh giá trị trung bình diện tích vết thương còn lại giữa các lô. Giải phẫu bệnh lý vùng da bị bỏng đã được điều trị, xem xét mức độ biểu mô hóa và tính bất thường về mặt tế bào học.

2.2. Đối tượng và phương pháp thử nghiệm lâm sàng

● **Đối tượng:** gồm 80 bệnh nhân, tuổi từ 15 – 60, không phân biệt giới tính, được điều trị nội trú tại Khoa chữa Bỏng người lớn - Viện bỏng Quốc gia. Nghiên cứu được chia làm 2 giai đoạn:

Giai đoạn 1: thử nghiệm trên bệnh nhân ghép da. Vùng lấy da được đắp màng nghiên cứu sau khi phẫu thuật ghép da và đắp gạc vô trùng. Đắp màng nghiên cứu: 1/2 diện tích che phủ với màng Acetul 1/2 diện tích che phủ với băng nano bạc.

Giai đoạn 2: thử nghiệm trên bệnh nhân bỏng nông. Thay băng vết bỏng đảm bảo nguyên tắc vô khuẩn 1 lần /1ngày vào các buổi sáng. Việc thay băng kết thúc khi vết thương bỏng khô.

● **Phương pháp:** thử nghiệm lâm sàng có đối chứng, so sánh trước và sau điều trị, so sánh màng thử nghiệm và màng đối chứng từng cặp trên cùng một bệnh nhân.

● **Chỉ tiêu theo dõi lâm sàng**: theo dõi mạch, nhiệt độ, huyết áp động mạch của người bệnh trước điều trị và trong quá trình đắp màng nghiên cứu 2 lần /ngày (sáng –chiều). Theo dõi phản ứng của cơ thể sau mỗi lần thay băng, đắp màng. Mức độ đau khi đắp màng được đánh giá qua cảm giác chủ quan của người bệnh, theo thang điểm 5 bậc của Frank A.J.M. và CS (1982) kết hợp với phương pháp của Lê Thế Trung quan sát nét mặt người bệnh (1995):

● **Đánh giá:** đánh giá giảm phù viêm, giảm xung huyết xung quanh vết bỏng, diện tích vết bỏng còn lại. Chụp ảnh vết bỏng: tất cả các vết bỏng nghiên cứu được chụp ảnh vào các thời điểm trước và sau đắp màng,

● **Phương pháp nghiên cứu cận lâm sàng:** các xét nghiệm huyết học và sinh hóa máu được tiến hành vào 3 thời điểm: trước khi đắp màng nghiên cứu, sau khi đắp màng 7 ngày, sau khi đắp màng 14 ngày.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Các nghiên cứu về nguyên liệu chế tạo màng trị bỏng

3.1.1. Nghiên cứu chế tạo màng cellulose từ vi khuẩn A. xylinum

Nghiên cứu chế tạo màng BC tinh chế sử dụng tạo màng trị bỏng: đã xác định được màng BC tinh chế có độ dày 0,1mm, độ ẩm trong khoảng 69-70%, có khả năng thấm hút nước tốt. Màng BC còn có các tính chất đặc biệt như có khả năng cản khuẩn 100 %, khi xé màng không bị rách. Thử nghiệm tính kích ứng da theo tiêu chuẩn USP cho kết quả màng không kích ứng da.

a) Độ tinh khiết của màng BC tinh chế

Màng BC sau khi tinh chế ở tất cả các lô thử nghiệm đều được kiểm nghiệm độ tinh khiết bằng cách kiểm tra sự hiện diện của glucose và protein là hai chất có nồng độ cao trong môi trường nuôi cấy và không còn vi khuẩn *A. xylinum* trong màng.

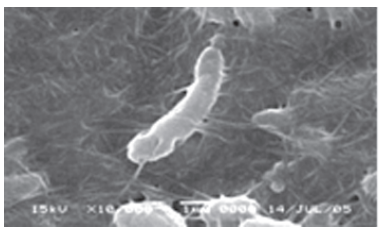
● ***Tìm sự hiện diện của glucose trong màng BC tinh chế:*** Dùng thuốc thử Fehling mới pha để phát hiện sự hiện diện của đường glucose trong dịch chiết màng. ***Kết quả:*** không phát hiện glucose hiện diện trong tất cả màng thử nghiệm .

● ***Tìm sự hiện diện của protein trong màng BC tinh chế:*** Protein trong dịch chiết màng được phát hiện bằng phản ứng kết tủa protein với acid triclor acetic. ***Kết quả***: phản ứng tủa âm tính, không phát hiện được protein trong dịch chiết của tất cả màng BC tinh chế.

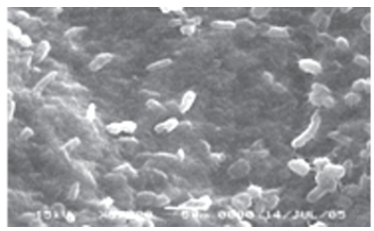
● ***Quan sát màng BC dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM)*****(x 10 000 lần):** Khảo sát cấu trúc của lớp màng BC tinh chế dưới kính hiển vi điện tử quét SEM JOEL-JSM 5500. Quan sát sự tạo thành các sợi cellulose từ tế bào vi khuẩn, sợi cellulose trong màng BC thô sau khi nuôi cấy và màng BC đã qua xử lý.

Nhận xét: Kết quả khảo sát màng BC dưới kính hiển vi điện tử quét cho thấy: Mạng lưới sợi

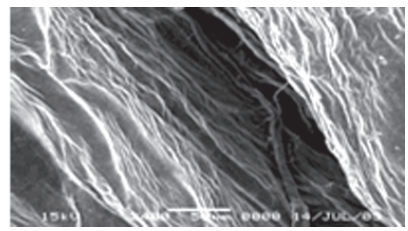
cellulose ở màng BC thô có nhiều vi khuẩn *A.xylinum.* (Hình 4) Mạng lưới sợi cellulose ở màng BC tinh chế không còn chứa vi khuẩn. (Hình 3)



Hình 1. *Hình chụp* A. xylinum *tạo sợi cellulose*



Hình 2. *Hình chụp vi khuẩn* A. xylinum *trong màng BC thô*



Hình 3. *Sợi cellulose của màng BC sau khi tinh chế*

3.1.2. Các nghiên cứu về hoạt chất tái sinh mô

Thử nghiệm độc tính hoạt chất tái sinh mô*:* Kết quả thử nghiệm độc tính bán cấp cho thấy hoạt chất tái sinh mô từ dầu mù u không thể hiện độc tính trên chuột thử nghiệm (Bảng 1).

Bảng 1. Tóm tắt kết quả thử độc tính bán cấp của hoạt chất tái sinh mô sau 60 ngày

Chỉ tiêu so sánh		Lô chứng	Lô thử	*p*
Cân nặng(g)	Bắt đầu thử nghiệm	21.2	21.2	$p > 0.05$
	Giữa đợt thử nghiệm	24.4	25.3	$p > 0.05$
	Cuối đợt thử nghiệm	29.3 1.0	29.60.9	$p > 0.05$
Xét nghiệm huyết học	WBC (K/uL)	9.08 ± 2.00	9.18 ± 1.31	$p > 0.05$
	RBC (M/uL)	8.21 ± 0.68	9.29 ± 0.40	$p > 0.05$
	Plt (K/uL)	558.83 ± 64.05	606.65 ± 86.41	$p > 0.05$
Xét nghiệm sinh hóa	SGOT (U/l)	101.30 ± 7.92	79.70 ± 7.25	$p > 0.05$
	SGPT (U/l)	47.51 ± 3.82	45.40 ± 8.10	$p > 0.05$
	Bilirubin trực tiếp (mg/ dl)	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.01	$p > 0.05$
	Bilirubin gián tiếp (mg/ dl)	0.18 ± 0.03	0.19 ± 0.02	$p > 0.05$
	BUN (mg/ dl)	17.30 ± 1.40	15.65 ± 2.54	$p > 0.05$
	Creatinin (mg/ dl)	0.52 ± 0.03	0.50 ± 0.05	$p > 0.05$
Giải phẫu bệnh lý	Mô gan	Lô chứng và lô thử bình thường		
	Mô thận	Lô chứng và lô thử bình thường		

Thử nghiệm tính kích ứng trên da của HCTSM: tiến hành trên thỏ, kết quả hoạt chất tái sinh mô không gây kích ứng da trong khi dầu mù u tinh chế gây kích ứng da thỏ thử nghiệm.

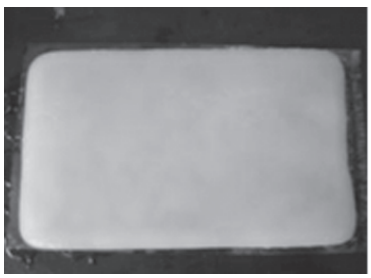
3.1.3. Các nghiên cứu về tinh dầu tràm trà Úc

Thử nghiệm tính nhạy cảm của da đối với tinh dầu tràm trà Úc*:* Kết quả tinh dầu tràm trà Úc ở nồng độ 10 % không gây kích ứng da.

3.2. Chế tạo màng trị bỏng Acetul

Đã xác định được tỷ lệ thích hợp các thành phần sử dụng phối hợp với màng BC tinh chế để tạo màng trị bỏng Acetull: Sau khi phối hợp với các thành phần, màng được đóng vào 2 lớp bao: bao

PE, bao nhôm và tiệt trùng màng bằng tia gamma. suất liều: 1,3 kGy/h, liều khử trùng: 25 Kgy/ phút. Kiểm soát độ vô trùng bằng phương pháp màng lọc.



Hình 4. *Màng BC tinh chế*

Hình 5. Mà*ng Acetul*

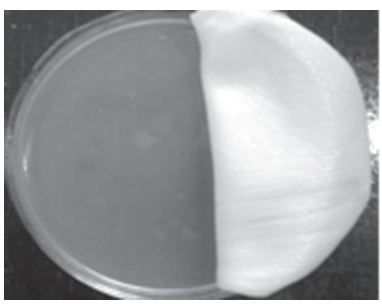
Hình 6. *Màng Acetul trong bao PE*

3.2.1. Các đặc tính của màng Acetul

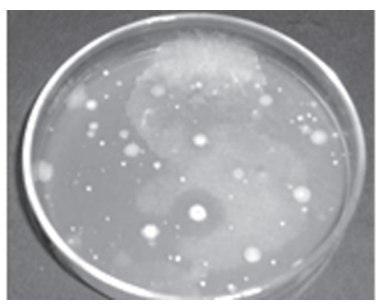
Khả năng hút nước: màng Acetul có độ hút nước nằm trong khoảng 6,54 g ± 0,113 g/100 cm^2, màng có khả năng cho thoát hơi nước tuy có tốc độ mất nước chậm hơn màng BC nhưng sau khoảng 10 giờ đến 12 giờ màng khô. Khả năng cho nước thoát từ màng sẽ giúp cho quá trình điều trị vết thương được thông thoáng và không bị giữ ẩm quá mức.

3.2.2. Các đặc tính sinh học của màng Acetul

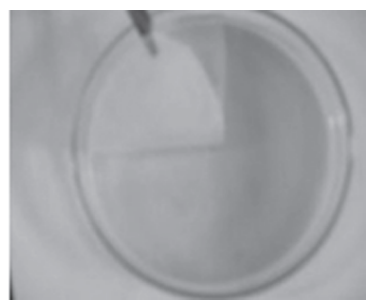
- **Khả năng hút nước:** màng Acetul có độ hút nước nằm trong khoảng 6,54 g ± 0,113 g/ 100cm^2.
- **pH của màng Acetul:** pH của màng nằm trong giới hạn 6,31 ± 0,132.
- **Khả năng cản khuẩn**: màng có khả năng cản khuẩn 100 % (hình 9).



Hình 7. *Bản thạch được che phủ bằng màng Acetul*



Hình 8. *Bản thạch không được che phủ bằng màng Acetul*



Hình 9. *Khả năng ức chế* P.aeruginosa *của màng Acetul*

3.2.3. Hàm lượng tinh dầu tràm trà Úc

Định lượng tinh dầu bằng phương pháp cất kéo hơi nước tại trung tâm phân tích thí nghiệm TP.HCM. Kết quả lượng tinh dầu nằm trong khoảng 0,07 ml ± 0,0015 / 100 cm^2 màng.

Tính gây kích ứng da của tinh dầu tram trà Úc được đánh giá theo tiêu chuẩn số 3113/1999/QĐ-BYT của Bộ Y tế. Kết quả cho thấy màng Acetul không gây kích ứng da thỏ thử nghiệm.

3.2.4. Độ vô khuẩn của màng Acetu

Thử độ vô khuẩn theo USP 28, sử dụng phương pháp màng lọc. Kết quả tất cả các mẫu thử nghiệm đều vô khuẩn.

3.2.5. Định lượng hoạt chất tái sinh mô trong màng Acetul.

- *Chọn mẫu*: chọn mẫu ngẫu nhiên từ các lô khác nhau, lấy 10 màng.
- *Tiến hành*: chiết hoạt chất tái sinh mô trong màng bằng ether, loại dung môi và cân hoạt chất

tái sinh mô còn lại.

• *Nhận xét*: màng Acetul chứa HCTSM trong khoảng 0,65 g ± 0,0044. Với hàm lượng này bề mặt màng đã được phủ đều một lớp HCTSM. Các thử nghiệm sinh học sẽ kiểm tra những đặc tính kháng khuẩn và mau lành vết thương của màng.

3.2.5. Tính kháng khuẩn của màng Acetul

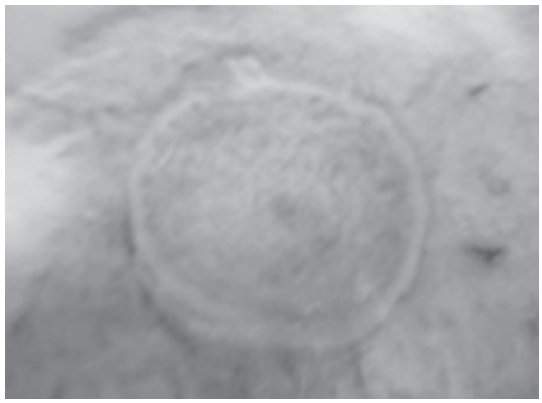
Theo kết quả Bảng 3, màng Acetul có khả năng ức chế sự tăng trưởng của 2 vi khuẩn thử nghiệm ở thời điểm 24 giờ. Tuy nhiên sau 48 giờ vi khuẩn tăng trưởng trở lại nhưng trên *S. aureus*, số lượng vi khuẩn vẫn giảm gần 100 lần so với lượng vi khuẩn ban đầu. Băng nano bạc thể hiện tác dụng kháng khuẩn mạnh hơn trên cả 2 vi khuẩn thử nghiệm.

Bảng 2. Khả năng ức chế vi khuẩn của màng Acetul

Thời gian	*S. aureus*		*P. aeruginose*	
	Acetul	Nano bạc	Acetul	Nano bạc
0 giờ	1,5 x 10^5	1,5 x 10^5	1,1 x 10^5	1,1 x 10^5
24 giờ	3,4 x 10^2	1,4 x 10^2	1,4 x 10^4	4,2 x 10^2
48 giờ	2,5 x 10^3	4,7x 10^2	1,2 x10^5	5,6x 10^3

3.2.6. Thử nghiệm invivo khả năng điều trị vết thương của màng Acetul

a) Gây bỏng trên thỏ và chẩn đoán độ sâu vết bỏng: Sau khi gây bỏng, đắp màng nghiên cứu và theo dõi tình trạng vết bỏng, đo diện tích vết bỏng còn lại.



Hình 10. *Vết bỏng dưới đèn tử ngoại*

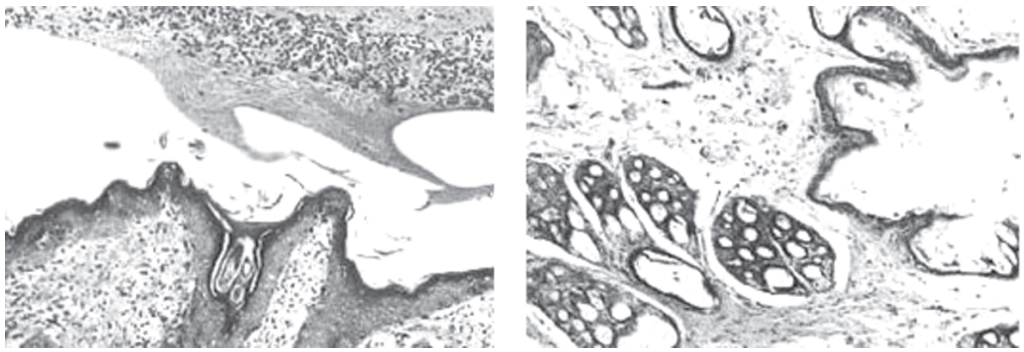
Bảng 3. Diện tích trung bình vết thương còn lại trong thử nghiệm

Ngày thứ	Diện tích trung bình vết thương còn lại của thỏ ở các lô thử nghiệm (cm^2), ± SD, *n*=10			
	Màng BC+ HCTSM	Acetul	Màng BC	Lô chứng
1	19,63	19,63	19,63	19,63
4	15,31 ± 0,45	15,44 ± 0,49	17,12 ± 0,51	17,25 ± 0,57
7	12,56 ± 0,35	12,38 ± 0,41	14,25 ± 0,46	14,88 ± 0,51
11	8,50 ± 0,21	9,06 ± 0,31	12,24 ± 0,38	13,38 ± 0,48

14	4,81 ± 0,32	4,69 ± 0,29	7,35 ± 0,34	8,38 ± 0,39
18	2,06 ± 0,28	1,88 ± 0,31	5,62 ± 0,25	6,38 ± 0,28
22	0,38 ± 0,12	0,31 ± 0,05	2,13 ± 0,15	4,63 ± 0,21

***Kết quả**:* Ở lô các vết bỏng được đắp bằng màng Acetul cho vết thương lành nhanh nhất. Lô đắp màng BC tẩm HCTSM cho kết quả gần bằng lô đắp màng Acetul. Các vết bỏng được đắp bằng màng BC cũng có tác dụng che phủ vết thương, giúp vết thương lành nhanh hơn so với lô chứng. (Bảng 3).

b) Giải phẫu bệnh lý vết bỏng: Sau thời gian điều trị bằng màng Acetul kết quả giải phẫu bệnh lý cho thấy sau 22 ngày, toàn bộ vết thương đều được phủ bởi lớp biểu mô lát sừng hóa bình thường. Không có tế bào bất thường.



***Hình 11.** Giải phẫu bệnh lý vùng da đã lành lô dùng màng Acetul*

3.3. Khảo sát tính ổn định của màng Acetul

3.3.1. Tính ổn định của màng BC: Thể hiện ở khả năng cản khuẩn và độ bền cơ học sau thời gian bảo quản. Màng Acetul bảo quản sau 30 tháng vẫn giữ khả năng cản khuẩn trên các vi khuẩn thử nghiệm.

3.3.2. Tính ổn định của hoạt chất tái sinh mô: Sau thời gian bảo quản đã có sự thay đổi về chỉ số lý hóa. Tuy nhiên sự thay đổi không nhiều và vẫn nằm gần các tiêu chuẩn của hoạt chất tái sinh mô.

3.3.3. Tính ổn định của tinh dầu tràm trà Úc: Tinh dầu tràm trà Úc có tính kháng khuẩn mạnh và ổn định trong khoảng thời gian 24 tháng (kể từ ngày sản xuất).

3.4. Sản xuất thử màng Acetul quy mô phòng thí nghiệm

Đã sản xuất thành công 10 000 màng trị bỏng Acetul với quy mô phòng thí nghiệm và đạt các chỉ tiêu của tiêu chuẩn cơ sở. Màng Acetul của các lô này đã sử dụng để thử nghiệm lâm sàng tại Viện Bỏng Quốc gia.

3.5. Thử nghiệm lâm sàng

Bảng 4. Diện tích trung bình đắp màng nghiên cứu

Nhóm	Diện tích vùng đắp màng (cm^2) (± SD)
Nhóm 1	302,8 ± 11,3
Nhóm 2	660,6 ± 55,4

3.5.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân: Bệnh nhân tỉnh táo, không có bất kỳ dị tật nào, không có bệnh mãn tính và bệnh truyền nhiễm kèm theo, tự nguyện tham gia vào nghiên cứu.

- Giai đoạn 1: đánh giá tác dụng của màng Acetul trên vị trí lấy da của 40 bệnh nhân (nhóm1). Vùng đối chứng sử dụng băng nano bạc.

- Giai đoạn 2: đánh giá tác dụng của màng Acetul đối với vết thương bỏng nông trên 40 bệnh nhân (nhóm 2), so sánh với băng nano bạc.

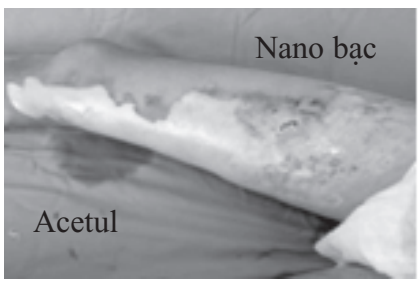
3.5.2. Khả năng kháng khuẩn của màng nghiên cứu trên vết thương bỏng nông

Qua 150 lần cấy vi khuẩn tại 2 thời điểm ngày 1 và ngày 7, có 117 lần dương tính chiếm tỷ lệ 73,1 %. Kết quả cho thấy với vết thương bỏng nông vi khuẩn chiếm tỷ lệ cao là *S. aureus* 52,1 %, tiếp đến là *P. aeruginosa* 34,2 %. Kết quả, số lượng vi khuẩn trung bình /1 cm^2 giảm sau 7 ngày nghiên cứu. Tuy nhiên, vết thương điều trị với băng nano bạc giảm rõ rệt hơn đối với cả *S. aureus và P. aeruginosa*, sự khác biệt với p <0,05. (bảng 5)

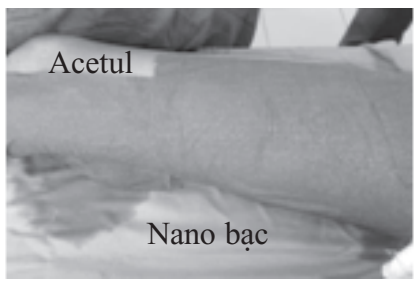
Bảng 5. Số lượng vi khuẩn trung bình /1cm^2 vết thương bỏng

Vi khuẩn	Số lượng vi khuẩn ở vết thương đắp màng , p <0,05			
	Vết thương đắp màng Acetul		Vết thương đắp băng nano bạc	
	Ngày 1	Ngày 7	Ngày 1	Ngày 7
S. aureus	67,27x10^3 ±11,34x10^3	47,08x10^3 ±5,60x10^3	73,78x10^3 ±22,68 x10^3	24,90x10^3 ± 5,60 x10^3
P. aeruginosa	109,90x10^3 ±27,85 x10^3	77,27x10^3 ±11,34 x10^3	114,23x10^3 ±24,50 x10^3	35,23x10^3 ±12,06 x10^3

MỘT SỐ HÌNH ẢNH BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU NHÓM 1



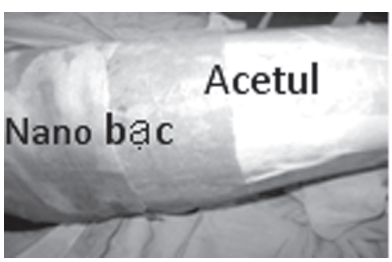
Hình 14. *Vùng lấy da sau khi khỏi hoàn toàn*



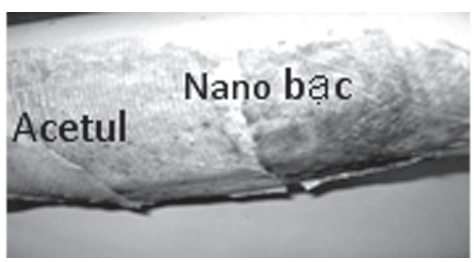
Hình 13. *Vùng lấy da sau 7 ngày đắp màng (Nano bạc bị bong, Acetul còn bám dính tốt*

Hình 12. *Đắp màng nghiên cứu*

MỘT SỐ HÌNH ẢNH BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU NHÓM 2



Hình 15 *Vết bỏng độ II*



Hình 16. *Chân phải: đắp băng nano bạc*

Hình 17. *Chân trái: đắp màng Acetul*

Kết quả thử nghiệm lâm sàng

Qua nghiên cứu tác dụng của màng Acetul trên vị trí lấy da và vết thương bỏng nông của 80 bệnh nhân được điều trị nội trú tại Viện Bỏng Quốc gia,cho kết quả:

(1). *Màng Acetul có tác dụng che phủ, bám dính vào nền tổn thương, khả năng thấm dịch tốt.* Trên vùng lấy da 35/40 bệnh nhân chỉ đắp màng một lần, không gây đau rát. Màng khô sau 4,5 ± 1,6 giờ tương đương với nhóm chứng được đắp băng nano bạc. Nhóm 2 (vết thương bỏng nông) khi tình trạng viêm nề giảm, màng bám vào nền vết thương tốt, số lần thay băng độ II là 1,7 ± 0,3 lần.

(2). *Tác dụng chống viêm, giảm phù nề và kích thích tái tạo mô và biểu mô hóa liền vết thương:*
- Ở vùng lấy da: đắp màng Acetul tình trạng viêm nề giảm dần và hết sau 2 – 3 ngày, thời gian liền vết thương là 11,6 ± 1,6 ngày gần tương đương với nhóm chứng được che phủ bằng băng nano bạc có ngày liền vết thương là 10,5 ± 1,5 ngày.

- Nhóm 2 (vết thương bỏng nông) tình trạng viêm nề giảm với độ II từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 4. Số lần thay băng 1,7 ± 0,3. dịch tiết giảm ở ngày thứ 2. Kết quả xét nghiệm tế bào trên tiêu bản áp với số lượng tế bào viêm giảm sau 7 ngày nghiên cứu. Tuy nhiên, số lượng tế bào viêm/ đơn vị diện tích ở nhóm chứng được đắp băng nano bạc giảm rõ rệt hơn (21,3 ± 7,1 xuống còn 12,6 ± 4,1 so với 23,1 ± 6,2 xuống còn 8,6 ± 2,5). Ngày khỏi trung bình với độ II là 9,6 ± 1,2 ngày so sánh với nhóm chứng được điều trị bằng băng nano bạc có số ngày khỏi bỏng độ II là 8,8 ± 1,2.

(3). *Màng Acetul có tác dụng ức chế sự phát triển vi khuẩn ở vết thương bỏng nông*

-Trên vết thương bỏng nông (nhóm 2): số lượng vi khuẩn trung bình /1cm^2 giảm sau 7 ngày ở cả 2 vùng nghiên cứu. Màng Acetul có khả năng ức chế sự phát triển của *S. aureus* mạnh hơn so với *P. aeruginosa*. Vùng được che phủ bằng băng nano bạc số lượng vi khuẩn /1cm^2 giảm rõ rệt hơn so với vùng nghiên cứu đối với cả *S. aureus và P. aeruginosa* ($p < 0,05$).

(4). Với 80 bệnh nhân nghiên cứu không gặp trường hợp nào xuất hiện đau, ngứa, nổi ban, rát trên da hoặc có sự thay đổi màu sắc của da sau khi thay băng đắp màng nghiên cứu. Không có sự thay đổi về thân nhiệt, mạch, các chỉ số huyết học, sinh hoá của bệnh nhân trước và sau khi đắp màng.

4. KẾT LUẬN

1. Đã chế tạo thành công màng Acetul trị bỏng từ cellulose của vi khuẩn *A. xylinum,* hoạt chất tái sinh mô từ dầu mù u và tinh dầu tràm trà Úc.

2. Màng Acetul có khả năng cản khuẩn 100% giúp bảo vệ vết thương chống ngoại nhiễm trong quá trình điều trị, không gây kích ứng da. Về hoạt tính sinh học, màng có khả năng làm vết thương mau lành do chứa hoạt chất tái sinh mô, có khả năng kháng khuẩn nhờ tác dụng của tinh dầu tràm.

3. Thử lâm sàng màng Acetul giai đoạn 1 và 2 tại Viện Bỏng Quốc gia cho kết quả khả quan với tác dụng gần tương đương băng nano bạc là một màng có tính sát khuẩn mạnh. Màng Acetul có khả năng che phủ tốt và đặc biệt bám dính vào vết thương, giúp vết thương mau lành. Việc sử dụng màng có nhiều thuận lợi như cách dùng đơn giản, không cần bảo quản nhiệt độ lạnh, dễ dàng lấy màng ra khỏi vết thương không gây đau đớn cho bệnh nhân...

4. Màng Acetul có tính ổn định trong điều kiện bảo quản ở nhiệt độ phòng, với hạn dùng là 24 tháng, các hoạt chất và các đặc tính của màng vẫn trong tình trạng tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Dyson M., Young S., Pendle C.L., et al. "Comparison of the effects of moist and dry conditions on dermal repair*". J. Invest. Dermatol.*, pp. 434-439 (1988).

[2] Ovington L., Peirce B"Wound dressings: Form, function, feasibility, and fact", in Krasner DL, Rodeheaver GT, Sibbald RG (eds): Chronic Wound Care: A Clinical Source Book for Healthcare Professionals (ed 3).Wayne, PA, HMP Communications, pp. 311-328 (2001).
[3] Campbell B.G., "Current concepts and materials in wound bandaging". *Proc. North. Am. Vet. Conf.* Orlando Fl 18, pp.1217-1219. (2004)
[4] Dolynchuk K.N., Debridement, Krasner DL, Rodeheaver GT, Sibbald RG (eds) "Chronic Wound Care: A Clinical Source Book for Healthcare" Professionals (ed 3). Wayne, PA, HMP Communications, pp. 385-391 (2001).
[5] Halcón L., Milkus K., "*Staphylococcus aureus* and wounds: a review of tea tree oil as a promising antimicrobial", *Am J. Infect. Control*. 2, pp. 121-124 (2004).
[6] Diete K. et al. "Bacterial synthesid cellulose – Artificial blood vessels for microsurgery". *Prog. Polym. Sci. 26,* pp. 1561-1603 (2001)
[7] Diete K. et al. "Bacterial synthesid cellulose – Artificial blood vessels for microsurgery". *Prog. Polym. Sci. 26,* pp. 1561-1603 (2001).