BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

NGUYỄN THÀNH CHUNG

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ TẠI CHỖ CỦA GEL CERI NITRAT 2,2% TRÊN VẾT THƯƠNG BỎNG DO NHIỆT

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

NGUYỄN THÀNH CHUNG

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ TẠI CHỖ CỦA GEL CERI NITRAT 2,2% TRÊN VẾT THƯƠNG BỎNG DO NHIỆT

Chuyên ngành: Ngoại khoa

Mã số: 9720104

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

CÁN BỘ HƯỚNG DẪN LUẬN ÁN:

PGS. TS. NGUYỄN NGỌC TUẤN

TS. ĐỖ LƯƠNG TUẤN

HÀ NỘI, NĂM 2021

LỜI CAM ĐOAN

Tôi cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi, các kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận án là trung thực, khách quan và chưa từng để bảo vệ ở bất kỳ học vị nào. Tôi cam đoan rằng mọi sự giúp đỡ cho quá trình thực hiện nghiên cứu đã được cảm ơn, các thông tin trích dẫn trong luận án này đều được ghi rõ nguồn gốc.

Hà Nội, ngày tháng năm 2021

Tác giả luận án

NGUYỄN THÀNH CHUNG

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình học tập và hoàn thành luận án này, tôi đã nhận được sự hướng dẫn, giúp đỡ quý báu của các thầy cô, các nhà khoa học, các bộ môn, khoa, các cơ quan đơn vị.

Tôi xin chân thành cảm ơn Đảng ủy và Ban giám đốc Bệnh viện Bỏng quốc gia Lê Hữu Trác, các cơ quan có liên quan, Phòng sau Đại học - Học viện Quân y đã tạo điều kiện, cho phép tôi được học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới Đại tá PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tuấn và Đại tá TS. Đỗ Lương Tuấn là hai người thầy hướng dẫn đã tận tình giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, thực hiện đề tài và hoàn thành luận án.

Xin chân thành cảm ơn gia đình, bạn bè đã động viên, giúp đỡ tôi học tập và hoàn thành luận án tốt nghiệp.

Tác giả luận án

Nguyễn Thành Chung

MỤC LỤC

TRANG PHỤ BÌA

LỜI CAM ĐOAN

LỜI CẢM ƠN

MỤC LỤC

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

DANH MỤC BẢNG

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

DANH MỤC HÌNH

ĐẶT VẤN ĐỀ 1

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN..... 3

1.1. PHÂN LOẠI ĐỘ SÂU TỔN THƯƠNG BỎNG..... 3

1.1.1. Bỏng nông 3

1.1.2. Bỏng sâu..... 4

1.2. QUÁ TRÌNH LIỀN VẾT THƯƠNG BỎNG 5

1.2.1. Giai đoạn cầm máu..... 5

1.2.2. Giai đoạn cấp tính 6

1.2.3. Giai đoạn tăng sinh..... 6

1.2.4. Giai đoạn trưởng thành, tạo sẹo 8

1.3. NHIỄM KHUẨN TẠI CHỖ VẾT THƯƠNG BỎNG VÀ THUỐC ĐIỀU TRỊ NHIỄM KHUẨN TẠI CHỖ VẾT THƯƠNG BỎNG 10

1.3.1. Nhiễm khuẩn tại chỗ vết thương bỏng..... 10

1.3.2. Các thuốc điều trị nhiễm khuẩn tại chỗ vết thương bỏng..... 16

1.4. CERI NITRAT VÀ ỨNG DỤNG TRONG ĐIỀU TRỊ BỎNG 18

1.4.1. Tổng quan về Ceri và Ceri nitrat..... 18

1.4.2. Một số tác dụng sinh học của Ceri..... 20

1.4.3. Ứng dụng ceri nitrat trong điều trị bỏng..... 21

1.4.4. Độc tính và các tác dụng không mong muốn của ceri nitrat..... 32
1.4.5. Chế phẩm gel ceri nitrat 33
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU..... 35
2.1. ĐỐI TƯỢNG VÀ CHẤT LIỆU NGHIÊN CỨU 35
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu độc tính thuốc..... 35
2.1.2. Đối tượng nghiên cứu hiệu quả kháng khuẩn 35
2.1.3. Đối tượng nghiên cứu điều trị bỏng thực nghiệm..... 36
2.1.4. Đối tượng nghiên cứu điều trị bỏng trên lâm sàng 36
2.1.5. Chất liệu nghiên cứu 37
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU..... 39
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp của ceri nitrat..... 39
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu độc tính bán trường diễn của ceri nitrat..... 40
2.2.3. Phương pháp nghiên cứu tính kích ứng da của gel ceri nitrat 41
2.2.4. Đánh giá khả năng kháng khuẩn của ceri nitrat..... 44
2.2.5. Phương pháp đánh giá tác dụng điều trị của gel ceri nitrat trên bỏng thực nghiệm..... 46
2.2.6. Phương pháp đánh giá tác dụng của gel ceri nitrat trên lâm sàng 53
2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu..... 57
2.2.8. Đạo đức nghiên cứu 57
2.2.9. Những hạn chế và khó khăn của nghiên cứu 58
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 60
3.1. ĐỘC TÍNH VÀ HIỆU QUẢ KHÁNG KHUẨN CỦA CERI NITRAT . 60
3.1.1. Độc tính cấp của gel ceri nitrat trên động vật thực nghiệm..... 60
3.1.2. Độc tính bán trường diễn của gel ceri nitrat trên chuột cống trắng..... 63
3.1.3. Kết quả nghiên cứu tính kích ứng da của gel ceri nitrat 65
3.1.4. Khả năng kháng khuẩn một số chủng vi khuẩn kiểm định in vitro 67
3.2. TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ VẾT BỎNG CỦA GEL CERI NITRAT..... 70
3.2.1. Tác dụng điều trị vết thương bỏng trên chuột thực nghiệm..... 70
3.2.2. Tác dụng điều trị vết thương bỏng trên lâm sàng 82

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN 96
4.1. ĐỘC TÍNH CẤP, BÁN CẤP VÀ TÍNH KÍCH ỨNG DA CỦA CERI NITRAT 96
4.1.1. Độc tính cấp của gel ceri nitrat 96
4.1.2. Độc tính bán trường diễn của gel ceri nitrat 97
4.1.3. Tính kích ứng da của dung dịch và gel ceri nitrat..... 98
4.2. ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG KHÁNG KHUẨN CỦA GEL CERI NITRAT...98
4.2.1. Căn nguyên gây nhiễm khuẩn vết thương bỏng 98
4.2.2. Tác dụng kháng khuẩn in vitro của gel ceri nitrat 102
4.2.3. Nồng độ ức chế tối thiểu và diệt vi khuẩn hoàn toàn của gel ceri nitrat . 103
4.2.4. Tác dụng kháng khuẩn gel ceri nitrat trên vết bỏng thực nghiệm và trên lâm sàng 106
4.3. TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ CỦA GEL CERI NITRAT TRÊN VẾT THƯƠNG BỎNG THỰC NGHIỆM VÀ TRÊN LÂM SÀNG..... 108
4.3.1. Tác dụng chống viêm, chống phù nề của ceri nitrat 108
4.3.2. Tác dụng làm khô hoại tử của ceri nitrat 112
4.3.3. Tác dụng tới miễn dịch của gel ceri nitrat 114
4.3.4. Tính an toàn của gel ceri nitrat..... 117
4.3.5. Bước đầu đánh giá tác dụng của gel ceri nitrat trên lâm sàng 120
KẾT LUẬN 126
KIẾN NGHỊ 128
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN
TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC 1
PHỤ LỤC 2
PHỤ LỤC 3
PHỤ LỤC 4

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
1	*Aci. baumannii*	*Acinetobacter baumannii*
2	BCĐNTT	Bạch cầu đa nhân trung tính
3	BN	Bệnh nhân
4	DTCT	Diện tích cơ thể
5	ECM	Extracellular Matrix
6	*E. coli*	*Escherichia coli*
7	FGF	Fibroblast growth factor (yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi)
8	EGF	Epidermal growth factor (yếu tố tăng trưởng biểu bì)
9	*K. pneumoniae*	*Klebsiella pneumoniae*
10	LPC	Lipoprotein complex
11	MBC	Minimum Bactericidal Concentration (nồng độ diệt khuẩn tối thiểu)
12	MIC	Minimum Inhibitory Concentration (nồng độ ức chế tối thiểu)
13	MMP	Matrix Metalloproteinase
14	MPS	Mucopolysaccharide
15	OECD	Organization for Economic Co-operation and Development (Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế)
16	*P. aeruginosa*	*Pseudomonas aeruginosa*
17	PDGF	Platelet derived growth factor (yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu)
18	*S. aureus*	*Staphylococcus aureus*
19	*S. epidermidis*	*Staphylococcus epidermidis*
20	SLBC	Số lượng bạch cầu
21	SLTB	Số lượng tế bào

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
22	SLTC	Số lượng tiểu cầu
23	SSD	Silver Sulfadiazine
24	TCCS	Tiêu chuẩn cơ sở
25	TGF β	Transforming growth foctor-β (yếu tố tăng trưởng chuyển đổi họ β)
26	TLCT	Trọng lượng cơ thể
27	VEGF	Vascular endothelial growth factor (yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu)
28	VK	Vi khuẩn

DANH MỤC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
2.1.	Đánh giá và phân loại kích ứng trên da thỏ	43
3.1.	Tỷ lệ chuột chết sau 14 ngày uống gel ceri nitrat	60
3.2.	Một số biểu hiện của chuột sau uống gel ceri nitrat	61
3.3.	Biến đổi trọng lượng chuột khi uống gel ceri nitrat	63
3.4.	Biến đổi các chỉ số huyết học và hóa sinh máu của chuột	63
3.5.	Tính kích ứng của dung dịch và gel ceri nitrat trên da lành thỏ	65
3.6.	Kết quả kháng khuẩn gram âm của gel ceri nitrat	67
3.7.	Kết quả kháng khuẩn gram dương của gel ceri nitrat	68
3.8.	Mối liên quan giữa số lượng vi khuẩn và nồng độ thuốc theo thời gian tiếp xúc	69
3.9.	Thay đổi cân nặng (g) của chuột trong quá trình nghiên cứu	70
3.10.	Diễn biến tại chỗ vết thương bỏng thực nghiệm	71
3.11.	Biến đổi kích thước vết bỏng theo thời gian điều trị	75
3.12.	Thời gian liền vết thương bỏng thực nghiệm	76
3.13.	Tỷ lệ % cấy khuẩn dương tính ở vết thương bỏng	76
3.14.	Tỷ lệ % chủng loại vi khuẩn vết thương bỏng	77
3.15.	Mật độ vi khuẩn bề mặt vết thương cấy khuẩn dương tính	78
3.16.	Thay đổi một số chỉ số huyết học của chuột thực nghiệm	79
3.17.	Sự thay đổi một số chỉ chỉ tiêu sinh hóa chuột	80
3.18.	Một số đặc điểm nhóm bệnh nhân nghiên cứu	82
3.19.	Diễn biến tại chỗ vết thương bỏng độ III sâu	83
3.20.	Diễn biến hoại tử tại chỗ vết thương bỏng độ III sâu	84
3.21.	Tỷ lệ % vết thương bỏng độ III sâu cấy khuẩn dương tính	87
3.22.	Tỷ lệ các loài vi khuẩn tại vết thươngcấy khuẩn dương tính	87
3.23.	Mật độ VK/cm^2 vết thương bỏng độ III sâu	88

Bảng	Tên bảng	Trang
3.24.	Thay đổi chỉ số huyết học ở bệnh nhân bỏng độ III sâu	88
3.25.	Thay đổi chỉ số hóa sinh máu ở bệnh nhân bỏng độ III sâu	89
3.26.	Thay đổi tế bào học tại về mặt vết bỏng độ III sâu	89
3.27.	Diễn biến tại chỗ vết thương bỏng độ IV	90
3.28.	Diễn biến hoại tử tại chỗ vết thương bỏng độ IV	90
3.29.	Tỷ lệ % vết thương bỏng độ IV cấy khuẩn dương tính	93
3.30.	Tỷ lệ loài vi khuẩn tại vết bỏng độ IV cấy khuẩn dương tính	93
3.31.	Số lượng vi khuẩn trên 1 cm^2 vết thương bỏng độ IV	94
3.32.	Thay đổi các chỉ số huyết học ở bệnh nhân bỏng độ IV điều trị ceri nitrat	94
3.33.	Các chỉ số hóa sinh máu ở bệnh nhân bỏng độ IV điều trị ceri nitrat	95
3.34.	Thay đổi mô bệnh học vết thương bỏng độ IV	95

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ	Tên biểu đồ	Trang
4.1.	Tác dụng của ceri nitrate.	117

DANH MỤC HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
1.1.	Sinh lý bệnh quá trình liền vết thương	9
1.2.	Lớp màng che phủ vết thương được tạo ra do Flammacerium có chứa calci	28
1.3.	Hai con đường gây hiện tượng Calci hóa chân bì ở vết thương điều trị bằng Ceri nitrat.	29
2.1.	Thuốc nghiên cứu và thuốc so sánh	37
2.2.	Máy xét nghiệm huyết học tự động Swelab, Thủy Điển	38
2.3.	Máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Biosystem BTS350	38
2.4.	Dụng cụ gây bỏng thực nghiệm	48
2.5.	Dụng cụ sinh thiết (Biopsy Punch) dùng trong nghiên cứu	51
2.6.	Kính hiển vi quang học OLYMPUS CX41 có hệ thống chụp ảnh	52
2.7.	Sơ đồ thiết kế nghiên cứu	59
3.1.	Hình thái cấu trúc gan, thận và lách chuột sau 14 ngày uống gel ceri nitrat. HE; 100X	62
3.2.	Hình thái cấu trúc gan, thận và lách chuột sau 4 tuần uống gel ceri nitrat. HE, (400X)	64
3.3.	Da thỏ ở các thời điểm tiếp xúc với gạc gel ceri nitrat	66
3.4.	Biểu đồ đường kính vòng vô khuẩn của thuốc với VK gram âm	67
3.5.	Biểu đồ đường kính vòng vô khuẩn của gel ceri nitrat với vi khuẩn	68
3.6.	Hình ảnh tổn thương sau gây bỏng	71
3.7.	Hình ảnh tổn thương sau 7 ngày điều	73
3.8.	Hình ảnh tổn thương sau 14 ngày điều trị	73
3.9.	Hình ảnh tổn thương sau 21 ngày điều trị	74
3.10.	Hình ảnh tổn thương bỏng sau khi điều trị khỏi	74
3.11.	Tổn thương bỏng lửa độ III sâu ngày thứ 3 sau bỏng	85

Hình	Tên hình	Trang

3.12. Tổn thương bỏng độ III sâu tuần nghiên cứu thứ nhất 85
3.13. Tổn thương bỏng độ III sâu vùng A, ngày nghiên cứu thứ 7 86
3.14. Tổn thương bỏng độ III sâu ngày nghiên cứu thứ 16 86
3.15. Tổn thương bỏng độ III sâu ngày nghiên cứu thứ 18 86
3.16. Đắp thuốc điều trị tổn thương bỏng độ IV chân phải ngày nghiên cứu thứ nhất 91
3.17. Đặc điểm tổn thương bỏng sâu độ IV ngày nghiên cứu thứ 6 91
3.18. Cắt hoại tử và ghép da tổn thương bỏng độ IV 92
3.19. Kết quả ghép da tổn thương bỏng độ IV 92
4.1. Hình ảnh y học hạt nhân của chuột ở ngày thứ 3 và ngày thứ 7 sau khi gây bỏng. 114

PL1. Khuẩn lạc của *E. coli, S. aureus* và *P. aeruginosa* ở các thời điểm tiếp xúc với gel ceri nitrat
PL2. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng A trước đắp thuốc
PL3. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng A ngày đắp thuốc thứ 3
PL4. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng A ngày đắp thuốc thứ 7
PL5. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng B trước đắp thuốc
PL6. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng B ngày đắp thuốc thứ 3
PL7. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng B ngày đắp thuốc thứ 7

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bỏng là tổn thương cấp tính của cơ thể gây nên bởi sức nhiệt, hóa chất, điện năng, bức xạ. Chấn thương bỏng gây rối loạn các chức năng trong cơ thể và các phản ứng toàn thân để tự bảo vệ và hồi phục. Quá trình từ khi bị bỏng, có thể phát sinh các rối loạn chức năng toàn thân và các biến đổi tại chỗ vết bỏng biểu hiện bằng các hội chứng bệnh lý xuất hiện có tính quy luật được gọi là "bệnh bỏng" [1]. Bỏng là nguyên nhân hàng đầu trong chấn thương, hàng năm có hơn 300.000 người tử vong do bỏng trên toàn cầu. Tỷ lệ bỏng ở những nước đang phát triển cao hơn đáng kể so với những nước đã phát triển. Số người bị bỏng trung bình hàng năm ở Nga là 170.000, ở Anh là 140.000 [2], [3].

Nhiễm khuẩn vết bỏng là biến chứng hay gặp, ảnh hưởng xấu tới quá trình liền sẹo, kéo dài thời gian điều trị, thậm chí nếu nhiễm khuẩn nặng còn ảnh hưởng tới diễn biến toàn thân. Vết bỏng hoại tử ướt diễn biến nặng nề do hiện tượng tan rữa hoại tử và hấp thu vào cơ thể gây trạng thái nhiễm độc, hoại tử ướt cũng là môi trường dinh dưỡng cho vi khuẩn phát triển gây nhiễm khuẩn tại chỗ và toàn thân, làm chậm quá trình lành sẹo, vết bỏng dễ bị hoại tử thứ phát [4], [5].

Mặc dù có nhiều tiến bộ trong hồi sức, dinh dưỡng, phẫu thuật nhưng tỷ lệ tử vong trong bỏng nặng vẫn còn cao, đặc biệt là ở các nước đang phát triển. Nguyên nhân chủ yếu là do nhiễm khuẩn, suy đa tạng mà nguyên ủy chủ yếu là từ tổn thương bỏng. Nguyên tắc cơ bản điều trị bỏng sâu diện rộng là phẫu thuật che phủ bằng da tự thân, tuy nhiên do thiếu hụt nguồn da tự thân và các vật liệu thay thế da tạm thời cũng như các khó khăn trong hồi sức trong và sau phẫu thuật ở các bệnh nhân bỏng sâu diện rộng, bỏng hô hấp nên việc điều trị bỏng sâu diện rộng còn nhiều khó khăn. Cách giải quyết hợp lý là phẫu thuật từng phần, từng giai đoạn đi cùng với hạn chế tối đa diễn biến xấu tại những phần bỏng sâu còn lại [3].

Ceri nitrat là chế phẩm có tác dụng kháng khuẩn hiệu quả để điều trị tại chỗ vết thương bỏng, làm mất tác dụng của độc tố bỏng, làm khô hoại tử ướt, góp phần làm giảm tử vong do bỏng [6], [7]. Nghiên cứu trên thực nghiệm của Eski M. và cs. (2012) cho thấy ceri nitrat có tác dụng dự phòng sự tiến triển thành hoại tử ở vùng ứ trệ trong tổn thương bỏng [6]. Theo Jakupec M. A. và cs. (2005), ceri nitrat kết hợp với Silver sulfadiazine được dùng để điều trị tại chỗ các vết bỏng rộng không thể cắt bỏ vết thương sớm. Ngoài tác dụng sát khuẩn trực tiếp, cerium còn giúp ngăn ngừa nhiễm khuẩn huyết sau bỏng và phản ứng viêm toàn thân bằng cách cố định các độc tố bỏng [7]. Ceri nitrat còn có ưu điểm khác là tính an toàn cao, khả năng hấp thu kém vào cơ thể.

Hiện nay, ở các nước phát triển, việc sử dụng chế phẩm ceri nitrat ngày càng rộng rãi, làm tăng khả năng cứu sống những bệnh nhân bỏng sâu diện rộng. Tuy nhiên, giá thành nhập khẩu chế phẩm ceri nitrat khá cao so với thu nhập của người Việt Nam.

Nhằm đáp ứng nhu cầu bức thiết trong điều trị vết thương bỏng, Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác đã nghiên cứu bào chế chế phẩm gel ceri nitrat 2,2% đạt tiêu chuẩn cơ sở. Để có thể ứng dụng gel ceri nitrat trong điều trị vết thương bỏng trên lâm sàng cần thiết phải nghiên cứu đánh giá độc tính và tác dụng của gel trên vết thương bỏng. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: "***Nghiên cứu tác dụng điều trị tại chỗ của gel ceri nitrat 2,2% trên vết thương bỏng do nhiệt***" với hai mục tiêu sau:

1. Đánh giá độc tính trên động vật thực nghiệm và khả năng kháng khuẩn của gel ceri nitrat.

2. Đánh giá tác dụng điều trị tại chỗ của gel ceri nitrat trên vết bỏng thực nghiệm và bước đầu đánh giá trên lâm sàng.

CHƯƠNG 1
TỔNG QUAN

1.1. PHÂN LOẠI ĐỘ SÂU TỔN THƯƠNG BỎNG

Có nhiều cách phân loại mức độ tổn thương bỏng căn cứ vào triệu chứng lâm sàng, tổn thương giải phẫu, quá trình tái tạo phục hồi. Về cơ bản, tổn thương bỏng có thể chia làm 2 nhóm chính: bỏng nông và bỏng sâu [1], [3].

1.1.1. Bỏng nông

Bỏng nông (Bỏng một phần da: Partial thickness burn), bao gồm viêm da cấp sau bỏng, bỏng biểu bì, bỏng trung bì. Biểu hiện trên da là các nốt phỏng. Vết bỏng có thể tự liền bằng quá trình biểu mô hoá từ các tế bào biểu mô lớp mầm, tế bào biểu mô của tuyến bã, nang lông, tuyến mồ hôi.

- Bỏng độ I (viêm da cấp sau bỏng): Tổn thương ở lớp nông của thượng bì (lớp sừng). Lâm sàng biểu hiện ban đỏ, nề, đau rát. Khỏi sau 2 - 3 ngày, tổn thương làm bong lớp nông của thượng bì, không để lại rối loạn sắc tố da.

- Bỏng độ II (Bỏng biểu bì): Tổn thương các lớp thượng bì, nhưng lớp tế bào mầm và màng đáy hầu như còn nguyên vẹn. Lâm sàng là các nốt phỏng vòm mỏng, chứa dịch trong hoặc vàng nhạt. Sau 3 - 4 ngày, dịch nốt phỏng một phần hấp thu, phần bay hơi tạo albumin đông đặc trong nốt phỏng. Khỏi sau 1 - 2 tuần, không để lại sẹo.

- Bỏng độ III (trung bì): Tổn thương toàn bộ lớp biểu bì tới một phần trung bì, các phần phụ của da nằm sâu ở trung bì phần lớn còn nguyên vẹn. Bỏng trung bì chia làm hai nhóm:

Bỏng trung bì nông: Hoại tử toàn bộ lớp biểu bì, tổn thương tới lớp nhú trung bì, nhưng các phần phụ của da (các gốc lông, các tuyến mồ hôi …) còn nguyên ven.

Bỏng trung bì sâu: Tổn thương tới lớp sâu trung bì, chỉ còn một phần sau của tuyến mồ hôi.

Lâm sàng: Bỏng độ III biểu hiện chủ yếu là nốt phỏng hoặc đám da hoại tử. Nốt phỏng bỏng trung bì có tính chất vòm dày, dịch nốt phỏng đục, màu đỏ, hồng máu. Cảm giác đau còn nhưng giảm. Bỏng trung bì có thể khỏi sau 15 - 30 - 45 ngày, để lại sẹo mềm, nhạt màu so với da lành lân cận, nhìn kỹ thấy có điểm lỗ chỗ nhỏ [3], [8].

Diễn biến bỏng trung bì thường phức tạp. Khả năng tự liền vết bỏng sẽ mất nếu các đảo biểu mô của các phần phụ của da còn sót lại bị hoại tử thứ phát do viêm mủ, do rối loạn tuần hoàn (tì đè).

1.1.2. Bỏng sâu

Độ IV (bỏng toàn bộ lớp da: Full thickness burns) và độ V (bỏng sâu tới các tổ chức dưới da).

Lâm sàng bỏng sâu thể hiện hoại tử ướt hoặc hoại tử khô. Với tổn thương bỏng hoại tử ướt, diễn biến quá trình tại chỗ và toàn thân thường nặng hơn hoại tử khô. Ở vết bỏng hoại tử ướt, quá trình viêm, nhiễm khuẩn thường nặng, các chất độc hình thành do hoại tử, do đáp ứng viêm dễ hấp thu vào máu gây nhiễm độc nặng nề. Liền vết bỏng hoại tử ướt thường chậm hơn, dễ bị hoại tử thứ phát chuyển độ sâu. Ranh giới hoại tử ướt với mô lành không rõ ràng nên nhiễm khuẩn dễ phát triển lan tràn. Hoại tử ướt là môi trường thuận lợi vi khuẩn phát triển, nhất là khi quá trình viêm mủ xảy ra (tương ứng toàn thân thường nặng). Diễn biến hoại tử khô: không tan rã mà khô đét rồi rụng cả khối, hình thành mô hạt. Hoại tử khô có thể chuyển thành hoại tử ướt và ngược lại. Hoại tử rụng sẽ hình thành mô hạt. Khi hoại tử rụng, sốt có thể giảm 1 - 3^o [3], [8].

Hoại tử bỏng là môi trường thuận lợi cho sự sinh trưởng của vi khuẩn (VK), đồng thời cũng là nguồn gốc gây nhiễm độc cho cơ thể. Tổn thương hủy hoại mô còn gây hội chứng đáp ứng viêm hệ thống với việc hình thành quá mức các chất trung gian viêm, cytokin, enzyme, sản phẩm chuyển hóa như các chất serotonin, các gốc oxy tự do, các sản phẩm chuyển hoá của acid

arachidonic (prostaglandin, leukotrien), các kinin (Prekallikrein, bradykinin, neurokinin A, B), yếu tố hoại tử u - TNFα (tumor necrosis factor)… [8], [9].

Phức hợp lipid - protein (lipid protein complex: LPC) được hình thành từ da bỏng, có trọng lượng phân tử cao (3.000.000 Da), tạo ra do quá trình polymer hóa bởi nhiệt của 6 polypeptide của da (từng polypeptid này không gây độc) còn gọi là độc tố bỏng (Burn toxin). LPC làm suy giảm miễn dịch mạnh hơn nội độc tố gấp 1.000 lần. LPC ức chế sinh trưởng tế bào và sự phân bào, làm tăng tính thấm màng tế bào, gây tổn thương tế bào, gây tiêu huyết... LPC gây sự đáp ứng viêm hệ thống dẫn tới rối loạn chức năng đa tạng, suy đa tạng, suy giảm miễn dịch. LPC hấp thu vào máu ngay những giờ đầu sau bỏng, tăng dần ở những ngày tiếp theo. LPC chịu trách nhiệm chính trong việc gây tử vong cho bệnh nhân bỏng nặng. Do vậy, khi có hoại tử bỏng, một trong những biện pháp điều trị tích cực là chủ động loại bỏ mô hoại tử càng sớm càng tốt, tranh thủ che phủ tổn thương bỏng. Đây là biện pháp chủ động loại bỏ căn nguyên gây rối loạn tại chỗ và toàn thân.

1.2. QUÁ TRÌNH LIỀN VẾT THƯƠNG BỎNG

Tùy thuộc vào diện tích, độ sâu của vết bỏng, sức đề kháng của cơ thể, vết bỏng cơ bản tiến triển theo 4 giai đoạn: giai đoạn cầm máu, cấp tính, tái tạo và hình thành sẹo. Bốn giai đoạn này đan xen, ảnh hưởng lẫn nhau [8], [9].

1.2.1. Giai đoạn cầm máu

Giai đoạn cầm máu xảy ra ngay sau bỏng, liên quan đến sự co mạch, kích hoạt và kết tập tiểu cầu, đồng thời giải phóng các yếu tố đông máu và tăng trưởng (như yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu (Platelet derived growth factor: PDGF), yếu tố tăng trưởng biểu bì (Epidermal growth factor: EGF) và yếu tố tăng trưởng chuyển đổi họ β (Transforming growth foctor-β: TGFβ)) bởi tiểu cầu, tế bào sừng, đại thực bào và nguyên bào sợi, dẫn đến lắng đọng cục máu đông fibrin tại vị trí tổn thương, đóng vai trò như một chất nền tạm thời cho các giai đoạn tiếp theo của quá trình liền vết thương [8].

1.2.2. Giai đoạn cấp tính

Giai đoạn cấp tính với biểu hiện viêm cấp (inflammation), xuất tiết, viêm nhiễm khuẩn mủ, rụng hoại tử và làm sạch vết bỏng. Giai đoạn này bắt đầu bằng đáp ứng tuần hoàn, thể hiện ở phản ứng vi mạch: sung huyết, giãn mạch, tăng tính thấm dẫn tới thoát dịch rỉ viêm và tạo phù nề. Tại vùng bỏng có sự đáp ứng của tế bào viêm: bạch cầu đa nhân trung tính, tiếp theo là đại thực bào, muộn hơn là lympho bào. Tế bào viêm có nhiệm vụ loại bỏ hoại tử, diệt VK, khởi động và điều hòa sự liền vết thương. Giai đoạn này, tùy theo diện tích và độ sâu của tổn thương bỏng mà có thể kéo dài 3 - 7 ngày hoặc chồng lấn giai đoạn 3. Phản ứng viêm xảy ra trong vòng 72 giờ đầu sau khi bị tổn thương, trong đó đáp ứng của mạch máu diễn ra ngay vào những phút đầu tiên của giai đoạn viêm. Tiếp theo là hiện tượng di chuyển những tế bào viêm (sau 2-4 giờ) và nguyên bào sợi (sau 2 giờ) [8], [9].

Phản ứng viêm là sự kích hoạt phối hợp các con đường truyền tín hiệu điều chỉnh mức độ chất trung gian gây viêm trong các tế bào mô tại chỗ và các tế bào viêm được huy động từ máu. Quá trình phản ứng viêm có thể tóm tắt như sau: 1) các thụ thể mô hình bề mặt tế bào nhận ra các kích thích có hại; 2) con đường viêm được kích hoạt; 3) các marker viêm được giải phóng; và 4), các tế bào viêm được huy động [8], [9].

1.2.3. Giai đoạn tăng sinh

Giai đoạn tăng sinh (proliferative phase) gồm tăng sinh các tế bào, bao gồm cả biểu mô hoá, tạo mô liên kết, co kéo vết thương.

- Bỏng biểu bì tự liền bằng quá trình tái sinh biểu bì, bắt nguồn từ tế bào mầm. Sự tái tạo của bỏng trung bì bắt nguồn từ các tế bào biểu mô còn sót lại ở các phần phụ của da, kết hợp biểu mô hóa từ bờ mép để phủ kín vết bỏng.

- Với bỏng sâu toàn bộ da, sự tái tạo sau khi hoại tử rụng, các quá trình cơ bản là hình thành mô hạt và theo sau là biểu mô hóa từ bờ mép vết thương

hoặc phủ kín mô hạt bằng các mảnh da ghép. Tạo mô hạt thường bắt đầu từ ngày thứ 3 - 4, hoàn thành vào ngày 21 sau bỏng. Mô hạt gồm có các tân mạch, các tế bào mới và chất nền. Trong quá trình liền vết thương, nguyên bào sợi (fibroblaste) được hoạt hóa, tăng sinh và tái tổng hợp đầu tiên là các fibronectin, tiếp đó là các protein ngoại bào gồm có collagen, elastin và các glycosaminoglycan. Mô hạt là tổ chức liên kết tân tạo, là cơ sở cho quá trình biểu mô hoá. Biểu mô hoá phủ kín lớp mô hạt sẽ kết thúc quá trình tái tạo.

Giai đoạn tăng sinh là giai đoạn hình thành nên các mô mới. Bên cạnh việc bắt đầu phản ứng viêm thông qua tương tác với bạch cầu, các tế bào nội mô vi mạch đóng vai trò chính trong giai đoạn sửa chữa tăng sinh. Sự hình thành các mao mạch mới từ những mạch đã có từ trước (sự tạo mạch) là cần thiết để khôi phục oxy và cung cấp chất dinh dưỡng cần thiết cho mô hạt mới hình thành trong vết thương. Các chất gây kích thích mạch máu, bao gồm các yếu tố tăng trưởng, đáng chú ý nhất là yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (Vascular endothelial growth factor: VEGF), yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi (Fibroblast growth factor: FGF) - 2, yếu tố PDGF và các thành phần của yếu tố TGFβ, chemokine và enzyme tạo mạch (đáng chú ý là serine proteinase thrombin), các thụ thể đặc hiệu của nội mô và các phân tử bám dính, như integrins, nhiều loại trong số đó được giải phóng trong giai đoạn viêm sửa chữa [10], [11].

Việc xây dựng một mạng lưới mạch máu đòi hỏi các bước tuần tự bao gồm tăng tính thấm của vi mạch, giải phóng proteinase từ các tế bào nội mô hoạt hóa với sự thoái hóa cục bộ của màng đáy xung quanh mạch máu hiện tại, sự di chuyển và nảy chồi của các tế bào nội mô vào khoảng kẽ, sự tăng sinh tế bào nội mô và biệt hóa thành các mạch máu trưởng thành, sau đó là sự thoái hóa và co nhỏ mạch máu mới khi tái tạo mô [10], [11], [12].

Sự hình thành của một lòng mạch có thể bao gồm sự kết hợp của màng plasma của các tế bào riêng lẻ và/hoặc các tế bào lân cận, cũng như sự hình

thành không bào nội bào lớn sau đó là sự hợp nhất của không bào để hình thành các tế bào vòng, mà cuối cùng hợp nhất để tạo thành mao mạch liền mạch. Các mao mạch sau đó trở nên ổn định khi các tế bào nội mô tương tác với màng đáy mới trong vòng 24 giờ sau khi hình thành mạch mới và thông qua việc huy động các tế bào ngoại mạch và tế bào cơ trơn. Trong quá trình liền vết thương, phản ứng tạo mạch này dẫn đến mật độ mạch vượt xa các mao mạch trong mô bình thường, không bị tổn thương và cung cấp cho mô hạt có hình dạng hạt màu đỏ. Các kích thích sinh mạch được điều hòa giảm xuống và/hoặc nồng độ các yếu tố chống tạo mạch tại chỗ (thrombospondin, INF-α, protein 10/CXC motif chemokine 10, và Sprouty 2) tăng và hầu hết các mạng lưới mạch hình thành gần đây nhanh chóng thu nhỏ thông qua hoạt động của metallicoproteinase chất nền (Matrix degrading metalloproteinase: MMP), đặc biệt là MMP - 1 và MMP và chết tế bào chọn lọc của các tế bào nội mô. Màu của vết thương nhạt đi khi lớp mao mạch phong phú biến mất khỏi mô hạt [12], [13], [14].

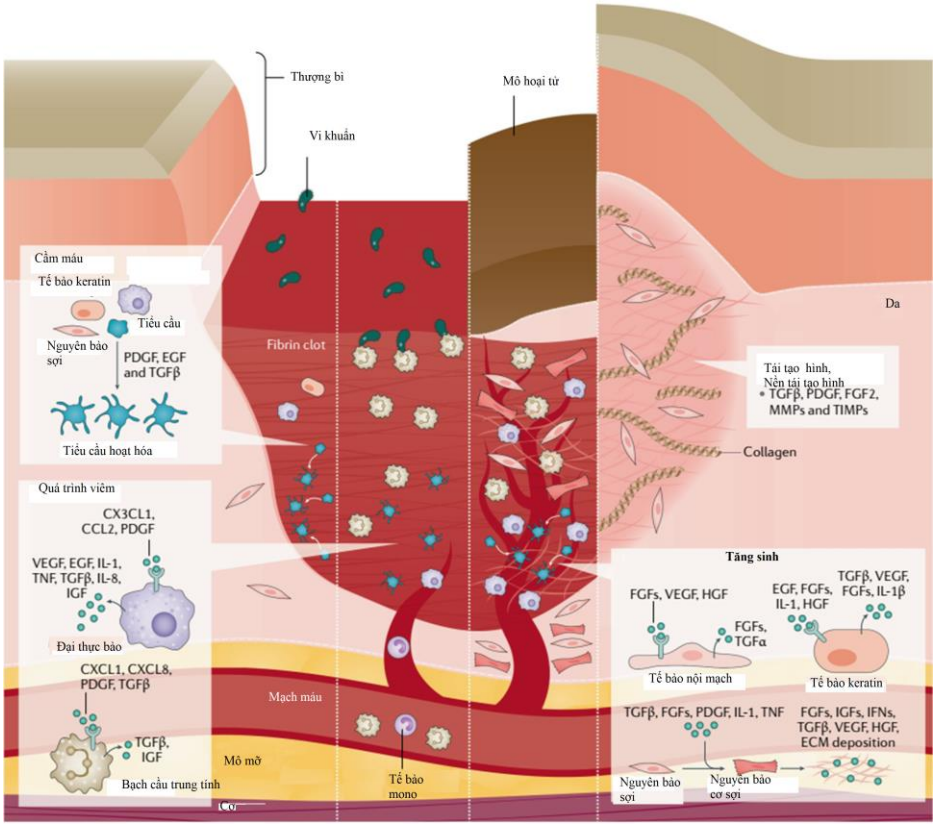
Một thời gian ngắn sau khi xâm nhập vào vết thương, nguyên bào sợi tổng hợp và bài tiết collagen cùng với mucopolysaccharide (MPS) vào chất nền, giữ vai trò quan trọng trong quá trình liền vết thương. Để đóng khiếm khuyết trong lớp biểu bì, các tế bào sừng ở rìa vết thương trước tiên phải nới lỏng sự kết dính của chúng với nhau và với màng nền, cũng như phát triển tính linh hoạt cần thiết để di chuyển qua chất nền. Nhiều cơ quan điều hòa đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh sự tăng sinh và di chuyển của các tế bào sừng trong quá trình biểu mô hóa; chúng bao gồm chemokine, cytokin, integrins, keratin, phân tử ECM (Extracellular Matrix) và MMP [15], [16], [17], [18].

1.2.4. Giai đoạn trưởng thành, tạo sẹo

Giai đoạn trưởng thành (maturation phase), tạo sẹo là thời kỳ dài nhất của quá trình liền vết thương bỏng, kéo dài 12- 24 tháng hoặc hơn nữa. Trong

giai đoạn tái lập sẹo có sự giảm bớt collagen, chuyển dần mô xơ thành lớp đệm mỡ, các mô xơ được sắp xếp lại thứ tự và định hướng. Việc tái lập collagen gồm sự tích tụ collagen do các nguyên bào sợi thực hiện và sự phân huỷ collagen bởi các enzyme collagen. Collagenase giữ vai trò quyết định trong việc duy trì tỷ lệ sinh lí bình thường giữa các typ collagen trong mô sẹo [17], [18], [19].

Trong giai đoạn tái lập sẹo, thời gian đầu thể tích sẹo lớn, hơi chắc, dày, bề mặt sẹo cao hơn mặt da và dính với mô lân cận, ít di động. Vào tháng thứ 2, bề mặt sẹo dần trở lại gần bề mặt da xung quanh, sang tháng thứ 3-4, sẹo di động được trên nền các lớp dưới da, nếu diễn biến tốt màu sắc sẹo gần với màu da bình thường, bề mặt sẹo mịn mềm mại. Tại mô sẹo, dịch gian bào và MPS giảm, các sợi collagen tái lập và tái kiến trúc được sắp xếp ổn định (hình 1.1) [8], [16], [17], [18].



Hình 1.1. Sinh lý bệnh quá trình liền vết thương

** Nguồn: Theo Jeschke M.G. và cs. (2020) [8].*

Diễn biến vết thương bỏng liên quan đến một chuỗi các quá trình sinh lí, hoá sinh xảy ra trong cơ thể nhằm mục đích sửa chữa và tái tạo mô mới làm liền vết thương. Đối với bỏng nông, bỏng độ II tự liền bằng quá trình tái sinh lại biểu bì, bắt nguồn từ việc phân bào của các tế bào sừng ở lớp tế bào đáy và sự biệt hoá thành các lớp gai, lớp hạt, lớp trong suốt, lớp sừng. Bỏng độ III với tổn thương hoàn toàn lớp biểu bì và một phần lớp trung bì, sự tái tạo vết bỏng phụ thuộc vào quá trình biểu mô hoá từ các đảo biểu mô của các phần phụ của da (ống lông, tuyến bã, tuyến mồ hôi) và từ phần biểu bì của mép da lành bao quanh vết bỏng. Đối với bỏng sâu (độ IV, độ V), quá trình liền vết thương bỏng diễn ra phức tạp hơn nhiều. Sau khi hoại tử bỏng đã rụng hoặc đã được cắt bỏ, mô hạt được hình thành và quá trình biểu mô hoá từ biểu bì của các mép da lành lan phủ kín mô hạt (nếu đường kính vết bỏng dưới 5 cm) hoặc là phủ kín mô hạt bằng các mảnh da ghép. Sinh học quá trình liền vết thương bỏng sâu bao gồm nhiều hiện tượng gối lên nhau, hiện tượng sau nối tiếp hiện tượng trước, nổi bật nhất là hiện tượng viêm, hiện tượng tăng sinh và hiện tượng tái lập sẹo.

Như vậy, quá trình sinh học liền vết thương bỏng có sự điều hoà phối hợp giữa các yếu tố, chỉ một khâu trong quá trình này trục trặc hoặc hoạt động kém sẽ làm chậm quá trình liền vết thương bỏng hoặc hình thành sẹo quá phát. Nhiều tác giả đã lưu ý rằng do tổn thương bỏng gây phá huỷ chất nền của da rất mạnh, nên sự sắp xếp của các sợi collagen không theo trật tự, các protease rất ít phát huy tác dụng ở vùng hoại tử đông do bỏng, do đó sẹo bỏng thường là sẹo phì đại hoặc là sẹo lồi [17], [18], [19].

1.3. NHIỄM KHUẨN TẠI CHỖ VẾT THƯƠNG BỎNG VÀ THUỐC ĐIỀU TRỊ NHIỄM KHUẨN TẠI CHỖ VẾT THƯƠNG BỎNG

1.3.1. Nhiễm khuẩn tại chỗ vết thương bỏng

1.3.1.1. Sinh bệnh học nhiễm khuẩn vết thương bỏng

Da là một màng mô dai, mềm dẻo che phủ toàn cơ thể người. Da có chức năng bảo vệ cơ thể chống lại ảnh hưởng có hại của môi trường bên ngoài

và chống sự xâm nhập của VK nhờ lớp tế bào sừng tạo thành một hàng rào sinh học, cách nhiệt, giữ nước cho cơ thể. Khi chấn thương bỏng xảy ra, lớp da bị tổn thương, hàng rào bảo vệ cơ thể không còn nguyên vẹn làm cho VK thường trú trên da BN và trong môi trường nhất là môi trường bệnh viện dễ dàng thâm nhập vào người bệnh qua vết bỏng [3], [20], [21], [22].

- Hoại tử bỏng là môi trường thuận lợi cho sự sinh trưởng của VK.

- Vùng tổn thương bỏng được nuôi dưỡng kém do các vi mạch bị huyết khối bít tắc, dịch phù bỏng ứ đọng cản trở tuần hoàn. Các chất trung gian viêm có ảnh hưởng bất lợi đến vùng mô lành lân cận, tạo điều kiện cho VK xâm nhập từ bề mặt vết bỏng theo ống lông, tuyến mồ hôi xâm nhập vào sâu tới cả mô lành xung quanh vết bỏng [3], [20].

- Tại vùng bị bỏng, quá trình diệt khuẩn của bạch cầu bị ảnh hưởng do nồng độ bão hòa oxy giảm thấp, do tuần hoàn tại chỗ giảm, chức năng miễn dịch tế bào (đại thực bào, IL-1, IL-6...) cũng bị cản trở hoạt động [21], [22].

- Các rối loạn toàn thân (nhất là bỏng sâu diện rộng) gây mất huyết tương dẫn đến giảm sức đề kháng của cơ thể.

Nhiễm khuẩn là biến chứng chủ yếu tại vết bỏng và là nguyên nhân gây ra 50% - 60 % trường hợp tử vong ở BN bỏng [3]. Do vậy, diễn biến tại chỗ vết thương bỏng, trạng thái toàn thân có liên quan chặt chẽ tình trạng nhiễm khuẩn tại chỗ tổn thương bỏng.

VK gram dương sống sót sau tổn thương nhiệt, nằm sâu trong tuyến mồ hôi và nang lông, xâm chiếm mạnh vào bề mặt vết thương trong 48 giờ đầu trừ khi sử dụng các chất kháng khuẩn tại chỗ. Sau 5- 7 ngày, những vết thương này sau đó bị nhiễm khuẩn với các VK khác, bao gồm VK gram dương, VK gram âm và nấm men có nguồn gốc từ hệ vi sinh vật đường tiêu hóa và đường hô hấp trên của vật chủ và/hoặc từ môi trường bệnh viện hoặc lây nhiễm từ bàn tay của nhân viên y tế. Trong nhiều thập kỷ qua, các VK

gram âm đã nổi lên như là căn nguyên phổ biến nhất của nhiễm khuẩn xâm lấn nhờ vào các đặc tính của chúng tiết ra các yếu tố độc hại và đặc điểm kháng kháng sinh. Nếu hàng rào bảo vệ của cơ thể chủ và các biện pháp điều trị (cắt bỏ mô hoại tử và đóng vết thương) là không đủ hoặc chậm trễ thì VK sẽ xâm nhập vào mô [23], [24], [25], [26], [27], [28].

Sự hình thành màng sinh học (biofilm) từ VK trong môi trường vết thương làm giảm hiệu quả của kháng sinh toàn thân hoặc tại chỗ đối với VK [29], [30], [31], [32].

Ở vết thương bỏng, biofilm có thể phát triển trong 48- 72 giờ. Các yếu tố trì hoãn sự hình thành biofilm có thể liên quan đến nhu cầu bổ sung chất dinh dưỡng của vi sinh vật, tình trạng của hệ thống miễn dịch và sự làm sạch vết thương. VK trong biofilm thường trải qua một sự thay đổi kiểu hình, theo đó sự sản sinh yếu tố độc lực của vi sinh vật bị thay đổi và tốc độ trao đổi chất và vận động bị giảm [33], [34], [35], [36].

Khi biofilm được hình thành sẽ ngăn chặn kháng sinh tiếp xúc với VK, đặc biệt là ở trung tâm chất nền của vết thương. Biofilm có khả năng bảo vệ VK đề kháng với kháng thể, kháng sinh, các chất khử trùng và đại thực bào viêm. Những vết thương có biofilm có thể điều trị một cách có hiệu quả bằng sự kết hợp của cắt lọc, rửa vết thương và thay băng để loại biofilm ra khỏi vết thương, ngăn chặn VK mới xâm nhập, đồng thời tiêu diệt những VK còn sót lại tại nền của vết thương [27].

1.3.1.2. Căn nguyên

Căn nguyên gây nhiễm khuẩn hàng đầu ở các vết thương bỏng là tụ cầu vàng (*Staphylococcus aureus - S. aureus)*, một số nghiên cứu gần đây cho thấy các nguyên nhân hàng đầu gây tử vong do nhiễm khuẩn hiện nay là các VK kháng thuốc, bao gồm *Pseudomonas* và *Acinetobacter* [37], [38], [39], [40], [41], [42].

**** Các vi khuẩn:***

- *S. aureus* vẫn là nguyên nhân chính gây nhiễm khuẩn vết bỏng. *Staphylococcus* tạo ra các sản phẩm độc hại như proteinase, collagenase và hyaluronidase xâm lấn vào các mô và lan tràn theo đường máu, gây nhiễm khuẩn tại chỗ và toàn thân. *S. aureus* kháng methicillin hiện là một trong những sinh vật hàng đầu gây nhiễm khuẩn xâm lấn ở các vết bỏng với tỷ lệ nhiễm khuẩn lớn hơn 50% [38], [39], [40], [41], [42].

- *Enterococcus*: Tầm quan trọng của *Enterococci* đã được đưa lên hàng đầu với sự xuất hiện của *Enterococcus* kháng vancomyxin. So sánh nguyên nhân tử vong do nhiễm khuẩn huyết giữa các thập kỷ (1989- 1999) và (1999 - 2009) thấy tỷ lệ nhiễm *Enterococci* đã giảm mạnh (25% đến 2%), nhưng tỷ lệ tử vong do *Enterococcus* kháng vancomyxin lại cao hơn so với *S. aureus* kháng methicillin (58% so với 33%) [37], [40], [43], [44].

Shokoohizadeh L. và cs. (2018) phân tích 340 mẫu VK phân lập được từ vết thương bỏng thấy tỷ lệ *Enterococci* là 16,4% (n= 56). Trong đó, *Enterococcus faecalis* là 35/56 mẫu (62,5%) và *Enterococcus faecium* là 21/56 mẫu (37,5%). Hơn 20% (n= 5) số mẫu *E. faecium* kháng với vancomyxin. Các tác giả cho rằng sự xuất hiện của các chủng *E. faecium* kháng vancomyxin là yếu tố nguy cơ đối với các trung tâm bỏng [44].

- *Pseudomonas* là mầm bệnh tại vết thương bỏng phổ biến nhất. Nhiễm khuẩn vết thương do *P. aeruginosa* gây ra thường sẽ có màu vàng/xanh đặc trưng và mùi trái cây thối [45], [46], [47], [48], [49], [50].

- *Acinetobacter*: tỷ lệ nhiễm khuẩn vết thương bỏng chỉ đứng sau *P. aeruginosa*, VK này có khả năng lây nhiễm giữa các BN vì khả năng sống sót trong cả điều kiện khô và ướt cũng như trên cả vật thể vô sinh và hữu sinh, dù là kim loại hay nhựa [47], [50], [51], [52], [53]. Bayram Y. và cs. (2013) phân lập 250 chủng VK từ vết thương bỏng của 179 BN thấy chiếm tỷ lệ cao là

Acinetobacter baumannii (*Aci. baumannii*) (23,6%), tiếp đến là *P. aeruginosa* (12%), *S. aureus* (11,2%), *E. coli* (10%) [45].

- *Enterobacteriaceae (E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus*): có liên quan đến nhiễm khuẩn ở BN bỏng, thường gây viêm phổi và nhiễm khuẩn đường tiết niệu.

- *Anaerobes*: VK kỵ khí hiện nay hiếm khi là một nguyên nhân gây nhiễm khuẩn xâm lấn trong bỏng. Các sinh vật kỵ khí phổ biến nhất được phân lập là *Bacteroides* và *Fusobacterium spp* [22], [43].

Branski L. K. và cs. (2009) nghiên cứu 398 BN bỏng nặng (>40% diện tích cơ thể) thấy các VK Gram âm là nguyên nhân gây nhiễm trùng nặng nhất ở BN bỏng. Colistin là loại thuốc kháng sinh hiệu quả cao chống lại VK đa kháng *Pseudomonas* và *Acinetobacter*. Các loại nấm gây bệnh chính ở BN bỏng là nấm *Candida spp., Aspergillus spp.,* và *Fusarium* spp [23].

Wang L. F. và cs. (2014) nghiên cứu 1.914 mẫu VK được phân lập từ các BN bỏng thấy có 1.355 chủng VK Gram âm và 559 chủng VK Gram dương. Tám chủng VK hàng đầu là *Aci. baumannii, P. aeruginosa, S. aureus, E. coli, S. epidermidis, K. pneumoniae, Enterobacter cloacae* và *Enterococcus*. Tỷ lệ kháng thuốc ở *Aci. baumannii , P. aeruginosa, S. epidermidis* và *S. aureus* lần lượt là 52,2%; 21,7%; 27,8% và 33,3% trong toàn bộ số mẫu bệnh phẩm [52].

Forson O. A. và cs. (2017) cấy khuẩn 50 mẫu bệnh phẩm của 50 BN bỏng thấy 43 mẫu bệnh phẩm (86%) dương tính và 7 mẫu bệnh phẩm (42%) âm tính. Các tác giả đã phân lập được 9 chủng VK khác nhau, chủ yếu là *Pseudomonas sp.* (30,2%), tiếp theo là các loài *Acinetobacter* (20,9%), *Proteus mirabillis* (16,3%), *Enterobacter sp*. (11,6%), *Klebsiella sp*. (7,0%), *Citrobacter sp.* (4,7%), *Klebsiella oxytoca* (4,7%), *Proteus vulgaris* (2,3%) và *S. aureus* (2,3%). Hầu hết các VK kháng thuốc [5].

**** Nấm/nấm men:***

Sự xâm nhập của nấm đã trở thành một vấn đề gia tăng bởi vì sự ra đời của thuốc kháng khuẩn tại chỗ và sử dụng kháng sinh phổ rộng không kiểm soát. Điều này đã dẫn đến sự gia tăng tình trạng nhiễm nấm, có liên quan đến tỷ lệ tử vong cao hơn bất kể mức độ bỏng, bỏng đường hô hấp phối hợp hoặc tuổi BN [48], [54], [55], [56], [57].

Ballard J. và cs. (2008) nghiên cứu 6.918 BN ở 15 cơ sở điều trị bỏng thấy 435 BN (6,3%) có cấy nấm dương tính. Các loại nấm bao gồm *Candida* (85%), nấm men không phải *Candida* (21%), *Aspergillus* (14%), nấm mốc khác (9,0%) và các loại nấm khác (1,4%). Các BN tuổi cao, diện tích bỏng lớn, bỏng hô hấp có nguy cơ nhiễm nấm nhiều hơn, tỷ lệ cấy nấm dương tính cao hơn và tỷ lệ tử vong tăng đáng kể (21,2%). Nuôi cấy dương tính được lấy từ vết thương là phổ biến nhất, tiếp theo là các mẫu bệnh phẩm hô hấp, nước tiểu và máu [55].

Phạm Phước Tiến và cs. (2015) nghiên cứu 858 BN bỏng nặng trong 3 năm (2012- 2014) thấy có 18/166 mẫu cấy máu dương tính (10,8%). Trong 18 trường hợp, loài *Candida albican* vẫn chiếm đa số (55,6%), nhưng có sự thay đổi về dịch tễ học, loài *Non-Candida albican* đang gia tăng về tỷ lệ nhiễm (44,4%) và đang dần trở thành nguyên nhân chính gây nhiễm nấm máu, tần suất tử vong là 50% [56].

Nguyễn Thái Ngọc Minh và cs. (2019) nghiên cứu 30 BN bỏng nặng được chẩn đoán nhiễm nấm xâm lấn thấy nấm *Candida* vẫn có tỷ lệ cao là 90% còn lại là *Aspergillus* 10%. Nấm *C. albicans* chỉ chiếm 30%, còn lại là các chủng *C. non albicans*. Các BN nhiễm nấm xâm lấn được cấy nấm tại các vị trí khác nhau. Tuần thứ nhất tỷ lệ dương tính cao nhất ở chất thải: nước tiểu 75% và phân 82%. Đặc biệt đã có tới 33% tỷ lệ dương tính ở bệnh phẩm mô sinh thiết và 20% ở bệnh phẩm máu. Tuần thứ hai và ba các mẫu cấy dương tính đạt tỷ lệ cao hơn trên các BN được chẩn đoán nhiễm nấm xâm lấn [57].

1.3.2. Các thuốc điều trị nhiễm khuẩn tại chỗ vết thương bỏng

Các thuốc kháng khuẩn chữa vết bỏng lý tưởng cần đạt các tiêu chuẩn: Không hoặc ít đau cho BN khi sử dụng; Có tác dụng với các VK gây nhiễm khuẩn vết bỏng; Tỷ lệ kháng thuốc thấp; Không gây dị ứng tại chỗ và toàn thân, ít gây tác dụng ngoại ý, không gây hại cho mô lành; Có khả năng thẩm thấu sâu vào hoại tử; Dễ sử dụng, dễ bảo quản, nguồn dược liệu phong phú, giá thành hạ. Một số thuốc điều trị nhiễm khuẩn tại chỗ vết thương bỏng hiện nay là [1], [3], [58], [59], [60], [61], [62]:

** Silver sulfadiazine 1% (biệt dược silvaden, silvirin, sulfadiazine bạc):*

Silver sulfadiazine (SSD) là muối bạc tạo bởi phản ứng nitrat bạc với sulfadiazine natri hòa lẫn trong cream bazơ tan trong nước, có nồng độ 1%. Thuốc có trọng lượng phân tử 375,14 g/mol; độ tan trong nước 1/105. Sau khi đắp SSD lên vết bỏng, thuốc có vai trò như một kho chứa ion bạc giải phóng được gắn với protein mô, ion bạc tự do được duy trì với nồng độ độc cho VK. Nồng độ bạc tương đương lượng bạc có trong dung dịch nitrat bạc 0,5% (30 mFq/l). SSD là chất ức chế cạnh tranh với axit folic, gây tổn thương màng tế bào VK. Tác dụng chống VK của thuốc do nhiều cơ chế: SSD tác động lên màng tế bào làm tổn thương màng, bạc kết tụ trong phân tử ADN làm suy yếu sự nhân đôi của VK [1], [59], [61].

SSD là một chất kháng khuẩn tại chỗ, đã được sử dụng rộng rãi để điều trị dự phòng và điều trị nhiễm khuẩn vết bỏng trong hơn 50 năm qua. Thuốc có phổ kháng khuẩn rộng, có tác dụng mạnh với nhiều loài VK gram dương, phòng ngừa, làm chậm sự xâm nhiễm vết bỏng của VK gram âm, có tác dụng với nấm *Cadida albicans*, thuốc ngấm vào các mô hoại tử bỏng, không gây đau, nhưng làm giảm bạch cầu trong máu [58], [60], [62].

Tuy nhiên, thuốc còn tồn tại một số nhược điểm: Thuốc làm mềm hoại tử, làm giảm sự tiêu hủy và rụng hoại tử. Khả năng ngấm của thuốc vào hoại tử kém, nên thuốc kiểm soát kém nhiễm khuẩn ở các vết bỏng sâu, có VK

phát triển ở lớp dưới hoại tử. Thuốc ít hiệu quả ở các lớp bỏng rộng >60% diện tích cơ thể. Không nên dùng cho phụ nữ có thai và cho con bú (gây vàng do trẻ sơ sinh), độc cho gan thận (trẻ đang bú) [1], [58], [59].

SSD có thể gây tác dụng phụ như làm giảm biểu mô hóa vết bỏng, kéo dài quá trình liền vết thương, thậm chí gây chuyển độ sâu bỏng ở ổ thuốc khuếch tán. Nếu đắp thuốc diện rộng, bạc xâm nhập vào máu gây độc cho gan, thận và có thể gây dị ứng. Việc sử dụng SSD kết hợp với kháng sinh toàn thân (nhóm aminoglycosid) có thể làm xuất hiện các chủng VK kháng thuốc như *Enterobnacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, những chủng VK này phát triển nhanh chóng ở vết bỏng [1], [58], [62].

** Nitrat bạc 0,25-0,5%:*

Thuốc có phổ kháng khuẩn rộng, đặc biệt với *P. aeruginosa*, ít gây dị ứng, nhưng có thể gây hạ Na^+, Cl^- trong máu. Dùng gạc tẩm thuốc đắp lên vết bỏng, sau đó cứ 2 giờ lại tưới thuốc đắp lên gạc, thay băng hàng ngày. Thuốc không gây khó chịu, không gây nhạy cảm da [3], [58].

** Axit boric dung dịch 2-4%, dạng mỡ 5-10% hoặc dạng tinh thể:* có tác dụng tốt với *P. aeruginosa* [3].

** Sulfamilon (mafenid):*

Thuốc dạng cream, tác dụng chống nhiễm khuẩn tốt (tác dụng tới chuyển hóa của VK), có hiệu quả với *P. aeruginosa*, VK gram dương và *Clostridia*, hạn chế tác dụng với *S. aureus* và nấm. Thuốc nhanh chóng ngấm vào hoại tử bỏng, ít tác dụng với các vết bỏng có nhiều dịch mủ hoặc huyết thanh. Thuốc gây đau tại chỗ kéo dài 1-2 giờ, có thể gây dị ứng và ức chế cacbonic anhydrase gây nhiễm axit chuyển hóa [1], [3], [58].

** Nitrofurazone:*

Thuốc ức chế enzyme của VK liên quan tới chuyển hóa, phổ tác dụng rộng cả VK gram dương và gram âm, ít tác dụng với *P. aeruginosa*, không tác dụng với nấm hoặc virus, xuất hiện kháng thuốc ở *S. aureus* và *E. coli*. Thuốc có

khả năng ngấm sâu vào hoại tử, do đó được dùng để điều trị nhiễm khuẩn bỏng sâu do VK. Các tác dụng không mong muốn: Viêm da dị ứng, suy thận [3].

** Chlorhexidine:*

Thuốc tác động vào VK theo cơ chế phá hủy cấu trúc thành VK. Thuốc có phổ kháng khuẩn rộng, xuất hiện kháng thuốc ở một số chủng *Pseudomonas* và *Proteus*. Thuốc được sử dụng điều trị bỏng vừa và nhẹ, phối hợp với SSD làm tăng tác dụng của thuốc. Thuốc có thể gây đau tại chỗ, nhiễm độc thận cấp [1], [58], [59], [60].

** Povidone – iodine:*

Thuốc sử dụng như là một kho chứa iod, khi sử dụng sẽ tiếp tục giải phóng ra iod, có tính chất sát khuẩn có hiệu quả, diệt nhanh VK, virus, nấm và một số động vật nguyên sinh. Hai cơ chế tác dụng bao gồm iod tự do diệt VK và các iod gắn kết trong chất trùng hợp là nguồn dự trữ. Khi tiếp xúc với da và niêm mạc, iod mỗi lúc lại tách ra các chất trùng hợp, iod tự do kết hợp với nhóm OH^- có thể oxy hóa được các amino axit trong các enzyme và cấu trúc protein vi sinh vật làm bất hoạt và phá hủy các enzyme và protein đó, hậu quả là phá hủy protein và ADN vi khuẩn. Hầu hết các VK trong quá trình sinh dưỡng đều bị tiêu diệt trong thời gian dưới 1 phút. Thuốc có tác dụng với VK gram âm và một số nấm, thuốc làm khô cứng hoại tử bỏng và gây xót khi đắp thuốc [1], [58], [59], [60].

1.4. CERI NITRAT VÀ ỨNG DỤNG TRONG ĐIỀU TRỊ BỎNG

1.4.1. Tổng quan về Ceri và Ceri nitrat

Ceri là kim loại thuộc nhóm lantan, số nguyên tử 58, khối lượng nguyên tử là 140.116, là chất rắn, màu bạc trắng. Ceri có tính chất tương tự như các kim loại kiềm thổ, thường tồn tại cùng với kim loại kiềm thổ trong thiên nhiên.

Trước kia, ceri được gọi là nguyên tố đất hiếm. Thuật ngữ “hiếm” do bắt nguồn từ thực tế xa xưa người ta cho rằng chúng chỉ có thể được tách ra từ

những khoáng chất hiếm có trong đất. Nhưng cho đến nay thì các nghiên cứu về nguyên tố đất hiếm đã xác định rằng chúng tương đối phổ biến trong vỏ trái đất. Ceri là nguyên tố phổ biến nhất trong số các nguyên tố đất hiếm, chiếm khoảng 0,0046% trọng lượng lớp vỏ trái đất. Các nguyên tố đất hiếm phân bố rộng rãi trên thế giới, có nhiều ở Trung Quốc, Mỹ, Nga, Úc, Nam Phi, Thái Lan, Ấn Độ… Tại Việt Nam, theo đánh giá của các nhà khoa học địa chất, trữ lượng đất hiếm ở khoảng 10 triệu tấn phân bố rải rác ở các mỏ quặng vùng Tây Bắc và dạng cát đen phân bố dọc theo ven biển các tỉnh miền Trung. Đất hiếm là một tài nguyên quý của nước ta và trữ lượng ước tính đứng thứ ba trên thế giới. Khó khăn lớn nhất trong khai thác đất hiếm chính là đòi hỏi có quy trình công nghệ cao, nhất là ở quy mô lớn [63], [64].

Nguyên tố đất hiếm và hợp chất của nó ngày càng được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khoa học kỹ thuật. Trong đó, ceri là kim loại duy nhất có hóa trị 3 và có rất nhiều trong tự nhiên. Ceri có rất nhiều dạng muối, trong đó dạng muối nitrat được sử dụng trong y học với nhiều tác dụng trên bệnh nhân bỏng tại một số trung tâm bỏng ở Châu Âu và Bắc Mỹ.

Ceri nitrat là một muối nitrat của nguyên tố đất hiếm ceri. Công thức hóa học của ceri nitrat là $Ce(NO_3)_3.6H_2O$. Tên khoa học: Ceri (III) nitrat hexahydrat. Khối lượng phân tử: 434,23 gram. Ceri nitrat có dạng bột mịn, không màu, không mùi, ceri nitrat cũng như các muối nitrat đất hiếm rất dễ tan trong nước và có độ hòa tan trung bình trong các dung môi như ethanol, ceton, ester nhưng không tan trong kiềm [65], [66].

Dung dịch ceri nitrat ở nồng độ 100g/L với dung môi nước ở 25^0C có pH 3,7. Ceri nitrat hòa tan tốt trong nước, ở điều kiện nhiệt độ 25^0C có độ tan là 1754 gram/L. Ceri nitrat tương tác với các tác nhân khử mạnh, các acid mạnh và các chất cyanid. Ceri nitrat có độc tính rất thấp, LD_{50} ở chuột cống trắng đường uống là 4200mg/kg trọng lượng chuột. Khi sử dụng ceri nitrat trên da thỏ thấy có kích ứng không đáng kể [67].

Ứng dụng ban đầu ceri nitrat trong y học dưới dạng cream ceri nitrat ái nước. Kết quả cho thấy thuốc ức chế mạnh VK Gram âm, ngược lại với SSD là ưu thế trên VK Gram dương [66], [68], [69], [70]. Hiện nay, ceri nitrat được sử dụng rộng rãi dưới dạng kết hợp giữa ceri nitrat (0,05M) với SSD (0,03M) (biệt dược như Flammacerium). Ceri nitrat có thể được sử dụng dưới dạng dung dịch (0,04M) để tắm cho BN và rửa vết thương bỏng hàng ngày [71], [72], [73].

1.4.2. Một số tác dụng sinh học của Ceri

Cũng như nhóm lathanide, vai trò sinh học của ceri vẫn cần được tiếp tục nghiên cứu. Ceri không có khả năng thấm qua màng tế bào còn nguyên vẹn của động vật có vú, nhưng có thể thấm vào bào tương tế bào không còn nguyên vẹn [74].

** Tương tác với hệ thống phụ thuộc calci:*

Tương tác nhóm lanthanide (trong đó có ceri) với hệ calci tùy thuộc vào nồng độ mà kích thích hay ức chế.

Calci hoạt hóa trypsinogen thành trypsin, làm ổn định chất nền. Ngược lại, lanthanide ức chế quá trình khác phụ thuộc calci, bao gồm hoạt hóa yếu tố X, phospholipase A_2 và kênh Ca^{2+}-ATPase của tế bào. Calci có vai trò quan trọng trong quá trình trưởng thành của keratinocyte và liền vết thương. Ceri có khả năng điều biến tác động calmodulin/Calcium trong quá trình tái sinh của vết thương [75].

** Tương tác tế bào:*

Các lanthanides không thấm trực tiếp qua màng tế bào động vật có vú, nhưng tương tác với kênh vận chuyển phụ thuộc calci qua màng tế bào, do vậy có thể tương tác với các yếu tố nội bào. Các lanthanide ức chế bài tiết cặp đôi tế bào như ức chế tiết angiotensin, bao gồm tiết aldosterone từ vỏ thượng thận và tiết trypsin từ tuyến tụy (Evan C. H. 1983). Cerium (và lanthanum) ức chế tác dụng thoái biến của tế bào mast, ức chế bài tiết histamin từ tế bào mast và tế

bào ái kiềm, ức chế bơm ATPase của màng tế bào. Tác dụng này cũng gặp ở tế bào Langerhans ở da (Gruner S. 1991, 1992) [76], [77]. Đây là cơ sở dùng ceri như thuốc điều trị tại chỗ bệnh eczema thể địa (ức chế tiết histamine), bệnh có rối loạn chức năng trình diện kháng nguyên của tế bào Langerhans và bài tiết histamine từ tế bào mast. Những nghiên cứu khác cho thấy sự trùng hợp collagen and G-actin chịu ảnh hưởng của lanthanides.

1.4.3. Ứng dụng ceri nitrat trong điều trị bỏng

1.4.3.1. Tác dụng kháng khuẩn của ceri nitrat

** Nghiên cứu in vitro:*

Các nghiên cứu trên in vitro đều cho rằng ceri nitrat có tác dụng ức chế VK. Cần lưu ý do tác dụng của ceri làm đông vón protein nên ảnh hưởng tới kết quả tạo vòng vô khuẩn trên thạch khi nghiên cứu tác dụng kháng khuẩn in vitro.

Theo Burkes S. và cs. (1947), ceri nitrat có tác dụng ức chế VK rộng nhưng phụ thuộc vào nồng độ pH, có tác dụng mạnh ở môi trường acid. Ceri nitrat ức chế tăng trưởng *Pseudomonas* ở nồng độ 0,001 và 0,004 M, bất hoạt *Escherichia* và *Salmonella* nồng độ ~ 0,005 M với *S. aureus* nồng độ gần như gấp 2 lần; tác dụng kháng nấm với 35 loại nấm thông thường của ceri nitrat, nồng độ đều cao hơn so với VK [72].

Sobek J. M. (1968) nhận thấy Cerium đi vào bào tương *E. coli* (tương phản hoàn toàn với tế bào của động vật có vú), ức chế hô hấp tế bào, ức chế chuyển hóa glucose và oxy. Về hình thái, thành tế bào còn nguyên vẹn, nhưng bị phồng lên khi nhìn dưới kính hiển vi điện tử. Tác giả cũng ghi nhận các tác dụng tương tự với nấm, làm biến đổi, phá vỡ màng nấm [73].

Herruzo C. R. và cs. (1992), Fraser J. F. và cs. (2004) đều ghi nhận ceri nitrat là một trong số các tác nhân kháng khuẩn tại chỗ tốt nhất với *S. aureus* và *P. aeruginosa* [78], [79].

** Tác dụng hiệp đồng với Silver sulfadiazine:*

Cream SSD được đưa vào sử dụng từ năm 1968, có tác dụng với nhiều loại VK, bao gồm cả *Staphylococci, Pseudomonas* và nấm. Hiện nay, SSD vẫn là thuốc chủ lực điều trị nhiễm khuẩn bỏng. Tuy nhiên, do việc sử dụng rộng rãi và sau một thời gian dài đã xuất hiện hiện tượng kháng thuốc: SSD hầu như ít hoặc không có tác dụng điều trị nhiễm khuẩn với BN bỏng rộng trên 60% diện tích cơ thể. Để khắc phục tình trạng này, các nhà nghiên cứu đã phối hợp SSD với ceri nitrat (ví dụ dạng chế phẩm mang tên Flammacerium) [80].

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh ceri nitrat làm tăng hoạt tính kháng khuẩn của thuốc SSD.

Monafo W. W. và cs. (1976) sử dụng cream và dung dịch ceri nitrat điều trị tại chỗ vết thương bỏng cho 60 BN thấy ceri nitrat có tác dụng khử khuẩn mạnh đối với vết thương bỏng, đặc biệt là VK gram âm và nấm [81].

Fox C. L. Jr. và cs. (1977) và Ross D. A. và cs. (1993) ghi nhận SSD-Ceri nitrat làm giảm tới trên 50% tỷ lệ tử vong trên BN bỏng nặng do sự giảm đáng kể tình trạng nhiễm khuẩn [82], [83].

Bowser B. H. và cs. (1981) đánh giá tác dụng của SSD khi phối hợp với ceri nitrat trên 31 bệnh nhi bỏng nặng và ghi nhận kết quả khả quan [84].

Boeckx W. (1985) ghi nhận điều trị bằng cerium flammazine (biệt dược chứa Ceri nitrat + SSD) ở BN bỏng nặng đã góp phần giảm tử vong, giảm nguy cơ nhiễm khuẩn, đặc biệt giảm tỷ lệ nhiễm do *P. aeruginosa* và *S. aureus* [85].

Marone P. và cs. (1998) ghi nhận tác dụng hiệp đồng của ceri nitrat với SSD với VK trên in vitro và lâm sàng. Cần lưu ý do tác dụng của ceri làm đông vón (bind) protein nên có thể ảnh hưởng tới kết quả tạo vòng vô khuẩn trên thạch khi nghiên cứu tác dụng kháng khuẩn in vitro [86].

Vehmeyer – Heeman M. (2006) ghi nhận tác dụng hiệp đồng của ceri nitrat với SSD làm tăng tỷ lệ thành công của phẫu thuật cắt hoại tử và làm tăng tỷ lệ sống của mảnh da ghép, làm giảm nguy cơ nhiễm khuẩn [87].

1.4.3.2. Tác dụng chống viêm của ceri nitrat

Tác dụng chống viêm của ceri nitrat được nhiều tác giả ghi nhận: nó ức chế tác dụng thoái biến của tế bào mast, ức chế bài tiết histamine từ tế bào mast và tế bào ái kiềm, ức chế bơm ATPase của màng tế bào. Ngoài ra, ceri nitrat còn có tác dụng chống viêm, làm giảm thoát albumin từ lòng mạch và chống phù nề [76], [77], [88], [89], [90].

1.4.3.3. Tác dụng tới miễn dịch của Ceri nitrat

Bỏng làm giảm và ức chế miễn dịch, làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn. làm ảnh hưởng đến hệ thống miễn dịch của da gây ra hàng loạt các rối loạn sinh lý bệnh sau tổn thương. Rối loạn miễn dịch ở BN bỏng liên quan mật thiết với tỷ lệ tử vong, làm tăng nguy cơ tử vong do suy đa tạng. Nghiên cứu thực nghiệm tiêm da bỏng đồng loại vào ổ bụng chuột khỏe mạnh gây tử vong 80% sau 10 ngày, tiêm da lành không gây hiện tượng này. Nghiên cứu lâm sàng cho thấy cắt hoại tử sớm làm giảm tỷ lệ tử vong. Do vậy, hoại tử bỏng chịu trách nhiệm chính gây suy giảm miễn dịch [65].

** Biến đổi miễn dịch trung gian tế bào:*

Chất LPC đóng vai trò quan trọng trong gây suy giảm miễn dịch ở BN bỏng, làm rối loạn các loại tế bào lympho T. Ức chế miễn dịch qua trung gian tế bào (cell-mediated immunity) sau bỏng có liên quan đến việc gia tăng tỷ lệ nhiễm khuẩn [91], [92], [93].

Ceri nitrat làm tăng đáng kể tỷ lệ T-cell helper/suppressor, góp phần giảm tử vong. Peterson V. M. và cs. (1985) nhận thấy sau 14 ngày, suy giảm miễn dịch bỏng lớn nhất, điều trị ceri nitrat phục hồi 90% CMI, tới 99% ở nhóm Ceri nitrat-SSD (CMI: sensitive marker of cell-mediated immunity, phản ánh sự nguyên vẹn của cơ chế tế bào T). Tác dụng này ghi nhận khi ceri nitrat được sử dụng sớm sau bỏng (tốt nhất trong vòng 2 giờ đầu) [91].

Sparkes B. G. (1993) đánh giá phản ứng của các tế bào lympho lấy từ BN bỏng trong vài tuần sau bỏng (diện tích bỏng >30%) thấy ceri nitrat có tác

dụng cố định LPC ở vết bỏng và ngăn chặn sự xâm nhập của nó vào hệ tuần hoàn. Nghiên cứu trên 10 BN bỏng được tắm ceri nitrat thấy hoạt động của tế bào lympho T ở mức bình thường chứ không bị ức chế [92].

Nghiên cứu của Qian L. W. và cs. (2020) trên động vật gây bỏng thực nghiệm điều trị ceri nitrat thấy ở ngày thứ 1 và thứ 7 sau khi gây bỏng, nồng độ các chất liên quan đến tổn thương da, hình thành từ tổn thương bỏng (DAMPs: damage associated molecular patterns) trong máu giảm đáng kể ($p<0,05$). Tổn thương bỏng cũng làm tăng nồng độ hyaluronan, một thành phần chất nền ngoại bào (extracellular matrix) ở ngày thứ 7 sau bỏng. Điều trị ceri nitrat cũng làm giảm đáng kể nồng độ hyaluronan ($p<0,05$) [94].

** Ảnh hưởng tới các cytokin:*

Thay đổi sinh lý trong vết thương bỏng không chỉ đặc trưng bởi yếu tố nhiệt mà còn liên quan chặt chẽ đến quá trình viêm cấp tính. Sau bỏng nhiệt, đáp ứng cytokin nhanh chóng xảy ra (dòng thác cytokin). Sự dư thừa của một số cytokin và sự kích hoạt các bạch cầu và tế bào nội mô gây ra sản xuất quá mức các chất hoạt hóa viêm. Hàng loạt các sự kiện có thể dẫn đến hội chứng đáp ứng viêm hệ thống (SIRS), hội chứng suy hô hấp cấp (Acute Respiratory Distress Syndrome- ARDS), hội chứng rối loạn chức năng đa phủ tạng (MODS), suy đa tạng (MOF), thậm chí dẫn đến tử vong. Hoại tử bỏng dưới tác động của cytokin tương tác với cơ thể làm ảnh hưởng đến một loạt các thay đổi về tuần hoàn và chuyển hóa [95], [96], [97].

Cytokin bản chất là các protein hoặc peptid tín hiệu giữa các tế bào, điều chỉnh các phản ứng viêm sau chấn thương, là chất điều hòa quan trọng với khả năng chống nhiễm khuẩn ở BN bỏng nhiệt. Các cytokin quan trọng nhất là IL-2, IL-6, Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF), IL-8 và TNF-α ở BN bỏng. TNF-α do đại thực bào kích hoạt tiết ra, TNF-α cũng điều hòa việc sản xuất một số cytokin khác. Nó cũng tăng cường kết dính nội mô cho bạch cầu, kích thích bạch cầu trung tính và bạch cầu đơn nhân khả năng

kết dính thực bào, oxy hóa và thoái biến. TNF-α có thể được coi là cytokin quan trọng nhất liên quan đến đáp ứng viêm hệ thống và suy đa tạng sau chấn thương nặng. Cả TNF-α và IL-6 được cho là chỉ số tiên lượng quan trọng sau khi bị bỏng nhiệt. IL-2 như là một yếu tố tăng trưởng với tất cả quần thể lympho T, kích hoạt các tế bào diệt tự nhiên và sản xuất kháng thể B-Cell, tăng các cytokin như IL-1, TNF-α, TNF-β và Interferon-γ. Nó đóng vai trò trung tâm điều hòa đáp ứng miễn dịch và tác động như một Marker của T-cell-mediated Immunity; tăng cao đáng kể sau bỏng nhiệt [95], [96], [97].

Việc tắm rửa cho BN sau bỏng bằng ceri nitrat đã được ứng dụng trên lâm sàng. Tắm bằng dung dịch ceri nitrat có tác dụng hoạt hóa chức năng Lymphocyte, duy trì mức cao hoạt động IL-2 Receptor hơn so với điều trị truyền thống. Nó cũng duy trì qua trình tạo in vitro Cellular IL-2, tác dụng tương tự trong điều biến mức Cytokin tiền viêm như IL-6, TNF-α ở chuột [95], [96].

Sengezer M. và cs. (1998) khảo sát hiệu quả của việc tắm ceri nitrat đối với nồng độ TNF-α trong huyết thanh ở chuột bị bỏng thấy ở ngày thứ 3 sau bỏng, nồng độ TNF-α của nhóm đối chứng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm thử nghiệm. Nồng độ TNF-α ở nhóm đối chứng là 24,6; còn ở nhóm thử nghiệm là 19,3 ($p<0,001$). Ở ngày thứ 7 sau bỏng, nồng độ TNF-α ở nhóm chứng là 25,4 và ở nhóm ceri nitrat là 14,6 ($p<0,001$). Các tác giả cho rằng điều trị bằng ceri nitrat đã ngăn chặn sự gia tăng nồng độ TNF-α trong giai đoạn đầu của bỏng. Điều này là do ngăn cản các chất độc hại có nguồn gốc từ vết thương bỏng xâm nhập vào máu và do đó cải thiện khả năng sống sót [95].

Eski M. và cs. (2012) nghiên cứu thực nghiệm đã ghi nhận sử dụng dung dịch ceri nitrat tắm rửa tổn thương sau bỏng dự phòng tiến triển thành hoại tử của vùng ứ trệ (*zone of stasis*), góp phần phục hồi tổn thương, rút ngắn thời gian tái tạo biểu mô. Cơ chế của ceri nitrat là làm giảm hoạt hóa bạch

cầu, giảm cytokin tiền viêm, giảm thoát đại phân tử, do vậy giảm phù nề. Ceri nitrat gắn kết với LPC làm giảm hoạt động thực bào, giảm tiết cytokin, do vậy làm giảm đáp ứng viêm hệ thống. Thời gian biểu mô hóa vùng nghiên cứu sử dụng ceri nitrat so với vùng chứng cũng nhanh hơn [6].

Qian L. W. và cs. (2020) thấy điều trị ceri nitrat làm giảm đáng kể mức độ tăng các cytokin ($p<0,0001$ đối với IL-1β và MIP-1α; $p<0,01$ đối với GRO-KC và IL-10) ở vùng da bỏng. Các tác giả cho rằng ceri nitrat có tác dụng làm giảm sự gia tăng các cytokin tiền viêm ở mô bỏng [94].

** Tác dụng tăng cường miễn dịch ở bệnh nhân bỏng:*

Tác dụng tăng cường miễn dịch ở BN bỏng của ceri nitrat liên quan chủ yếu tới bất hoạt độc tố bỏng và ức chế VK [94], [96], [97].

Deveci M. và cs. (2000) ghi nhận tác dụng phòng tránh suy giảm miễn dịch sau bỏng trên thực nghiệm của ceri nitrat. Động vật gây bỏng được tắm ceri nitrat làm giảm nồng độ TNF và IL-6 tương đương với việc loại bỏ mô hoại tử [96].

Qian L. W. và cs. (2020) nghiên cứu trên động vật thực nghiệm thấy tổn thương bỏng làm tăng hoạt độ myeloperoxidase ở mô bỏng, phản ánh sự xâm nhập bạch cầu đa nhân trung tính ở mô. Điều trị ceri nitrat làm giảm hoạt độ myeloperoxidase từ 93,84 ± 31,35 xuống 51,3 ± 5,6 (giảm 47%). Ceri nitrat cũng làm giảm nồng độ của Xanthine oxidase là enzyme xúc tác sự hình thành các gốc oxy tự do gây ra phù nề sau bỏng ($p<0,001$) [94].

1.4.3.4. Tác dụng tới hoại tử của Ceri nitrat

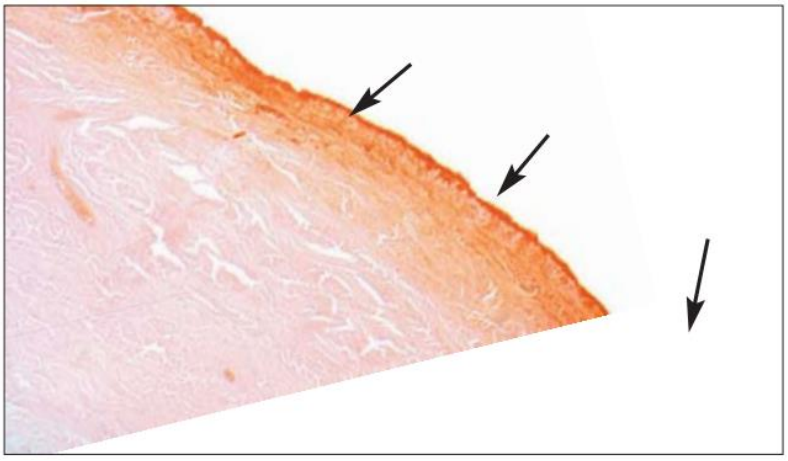
** Tác dụng làm khô hoại tử:*

Hoại tử bỏng là nguồn gốc gây ra rối loạn tại chỗ và toàn thân. Với các tổn thương hoại tử bỏng ướt, diễn biến quá trình tại chỗ và toàn thân thường nặng hơn hoại tử khô. Xu hướng hiện nay là dùng các biện pháp chuyển hoại tử ướt thành hoại tử khô. Một số biện pháp làm khô hoại tử bỏng [98], [99], [100] như sau:

- Biện pháp đơn giản là để hở hoàn toàn vết bỏng, có thể kết hợp với các biện pháp vật lý như sấy khô vết thương, bôi nhiều lần dung dịch betadin. Biện pháp này đòi hỏi yếu tố môi trường phải bảo đảm vô khuẩn, chỉ thực hiện được ở trung tâm lớn.

- Sử dụng thuốc chứa tanin (thuốc tạo màng). Tanin chứa nhiều trong các cây thuốc như lá sim, kháo nhậm, lá sến, lá ổi non... Tanin làm đông vón protein, tạo lớp màng che phủ tổn thương bỏng. Điển hình trong nhóm thuốc này là thuốc B76 (chế từ cây xoan trà). Thuốc sau khi tạo màng có tác dụng che phủ vết bỏng, hạn chế mất dịch thể do bay hơi, ngăn cản xâm nhập của VK từ môi trường. Tuy nhiên, thuốc này có một số nhược điểm như chỉ định chặt chẽ. Thuốc chỉ dùng cho vết bỏng đồng thời đáp ứng 3 điều kiện: sạch, không có hoại tử và mới. Sử dụng thuốc đòi hỏi phải bóc bỏ vòm nốt phỏng trước khi dùng (gây đau đớn thêm, phá bỏ hàng rào bảo vệ tạm thời, làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn...). Nếu bôi kín chu vi chi thể hoặc ngực bụng có thể gây chèn ép kiểu garo, nếu không phát hiện kịp thời có thể dẫn tới hoại tử phải cắt cụt hoặc suy hô hấp. Mặt khác, nếu sử dụng khi vết bỏng còn hoại tử, nhiễm khuẩn sẽ gây ngộ độc do hấp thu các sản phẩm phân hủy... Do những hạn chế trên nên hiện nay không khuyến khích sử dụng nhóm thuốc này.

Cerium thay thế calci trong vết thương và tạo nên lớp vảy che phủ vết thương giàu calci. Cerium có thể tương tác với các kim loại vi lượng khác liên quan đến quá trình liền vết thương bao gồm sắt, magiê và mangan, nhưng không có dữ liệu chứng minh sự hiện diện của các kim loại trong lớp vảy che phủ vết thương được điều trị bằng Cerium [101].



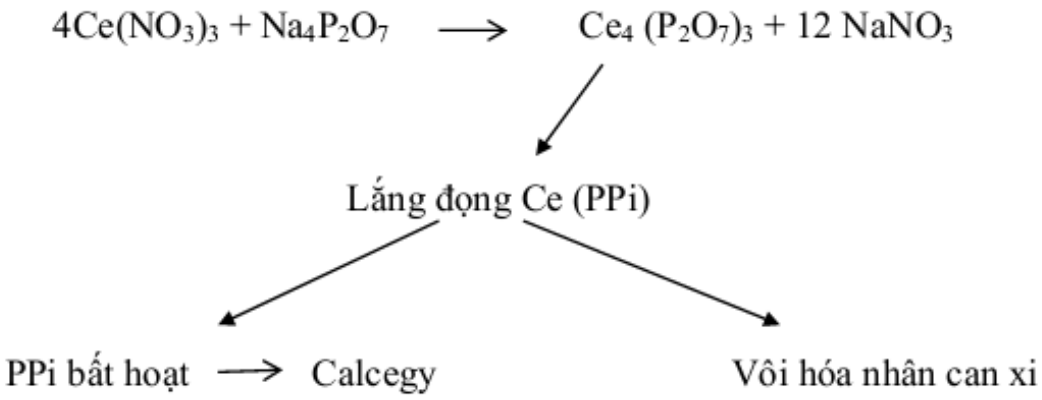
Hình 1.2. Lớp màng che phủ vết thương được tạo ra do Flammacerium có chứa calci.

** Nguồn: Theo Lansdown A. B. và cs. (2003) [101].*

SSD- Ceri nitrat được sử dụng với mục đích trì hoãn cắt hoại tử và ghép da. Lớp vỏ khô tạo thành từ lớp hoại tử ướt do tác dụng của SSD- Ceri nitrat (được mô tả như là lớp vỏ giống như thuộc da). Lớp vỏ này có tác dụng bảo vệ lớp dưới không bị nhiễm khuẩn, loại bỏ tình trạng suy giảm miễn dịch do độc tố bỏng gây ra trên cơ thể BN và có thể trì hoãn phẫu thuật [99], [100], [102].

Selye từ 1962 đã chứng minh khi tiêm dưới da các kim loại khác nhau (bao gồm cả kim loại kiềm thổ như ceri) có thể gây calci hóa tổ chức tại nơi tiêm (cũng gọi hiện tượng calciphylaxis). Boeckx W. và cs. (1992) điều trị 22 BN bằng SSD- Ceri nitrat với diện tích bỏng trung bình 21,7% . Kiểm tra mô bệnh học nhận thấy ceri nitrat đó gây calci hóa hoại tử bỏng bề mặt vết thương bỏng (trong khi lớp dưới của chân bì bình thường- thông qua xét nghiệm mô bệnh học nhuộm Van Gieson và nhuộm elstica). Ceri nitrat đã cố định pyrophosphate vô cơ và kết tủa với nhau. Tại đây, các collagen và elastin bị phá hủy. Do đó, nó tác dụng như một lớp vỏ mỏng, tạo thành một barrier bảo vệ cho collagen khỏi tác động của môi trường tiếp xúc và của vi sinh vật, có tác dụng phòng ngừa VK xâm nhập. Những mẫu sinh thiết 10 tuần sau bỏng vẫn thấy dấu hiệu lớp hoại tử nguyên vẹn của ceri. Ceri không tạo tác

dụng này khi bỏng nông, lớp màng đáy cũng nguyên vẹn. Không thấy hiện tượng nhiễm độc ceri. Tác giả không nhận thấy hình ảnh này ở nhóm điều trị SSD (với các biểu hiện như sợi elastin bề mặt chân bì bình thường, thâm nhiễm nhiều bạch cầu đa nhân và đại thực bào, tăng sinh nguyên bào sợi, tăng tổng hợp collagen…) [98].



Hình 1. 3. Hai con đường gây hiện tượng Calci hóa chân bì ở vết thương điều trị bằng Ceri nitrat.

** Nguồn: Theo Boeckx W. và cs. (1992) [98].*

De Garcia C. G. và cs. (2001) so sánh tác dụng điều trị bỏng của cream SSD- Ceri nitrat và SSD trên 60 BN thấy sự tái tạo biểu mô hóa của nhóm điều trị bằng SSD- Ceri nitrat xảy ra sớm hơn, vết bỏng sâu sau khi được bỏ lớp hoại tử khô đủ điều kiện ghép da sớm hơn 11 ngày so với nhóm điều trị bằng SSD. Thời gian nằm viện trung bình của nhóm điều trị bằng SSD- Ceri nitrat giảm 7 ngày so với nhóm chứng SSD [103].

** Tác dụng như một băng sinh học:*

Cerium làm bất hoạt LPC, làm biến chất các phức chất độc. Lớp hoại tử không ngấm này dự phòng bội nhiễm VK, giảm tỷ lệ tử vong. Lớp hoại tử khô này ngăn không cho độc tố bỏng thấm vào tuần hoàn. Hoại tử khô bám chắc vài tuần, với rất ít dấu hiệu nhiễm khuẩn dưới hoại tử, hoại tử vẫn có thể tồn tại mà không bị xâm hại [104], [105].

1.4.3.5. Tác dụng tới quá trình liền vết thương, làm giảm tỷ lệ tử vong

** Tác dụng thúc đẩy quá trình liền vết thương:*

Cũng có một số nghiên cứu cho thấy SSD- Ceri nitrat có tác dụng thúc đẩy quá trình liền vết thương [106], [107], [108].

Ramenzoni Liza L. và cs. (2017) thấy ceri có tác dụng thúc đẩy quá trình liền vết thương và tăng sinh nguyên bào sợi [106].

Eski M. và cs. (2012) sử dụng dung dịch ceri nitrat tắm rửa tổn thương sau bỏng dự phòng tiến triển thành hoại tử của vùng ứ trệ (*the zone of stasis*), góp phần phục hồi tổn thương, giảm phù nề, giảm đáp ứng viêm hệ thống. Các tác giả thấy ceri nitrat bảo vệ được tổ chức trước quá trình hoại tử tiến triển ở vùng ứ trệ. Tốc độ biểu mô hóa ở nhóm được điều trị bằng ceri nitrat là 64% so với nhóm chứng là 23% [6].

Nur-Ahmad L. và cs. (2019) gây bỏng thực nghiệm cho 20 chuột và chia ngẫu nhiên thành 02 nhóm: nhóm sử dụng SSD và nhóm SSD- Ceri nitrat đắp tại chỗ ngay sau khi bỏng và đắp hai lần/ngày trong 28 ngày. Đánh giá kích thước vết bỏng ở ngày thứ 28 thấy kích thước vết bỏng giảm 25% và 27% so với ban đầu ở nhóm SSD và SSD- Ceri nitrat [107].

** Tác dụng điều trị vết loét và vết thương mạn tính:*

SSD- Ceri nitrat còn được sử dụng để điều trị các vết loét và vết thương mạn tính, mặt bệnh phổ biến hiện nay. Cream SSD- Ceri nitrat có tác dụng điều trị tốt thông qua cơ chế làm giảm nồng độ của TNF-α, làm tăng số lượng nguyên bào sợi tại vết thương.

Nghiên cứu của Vitse J. và cs. (2018) cho thấy SSD- Ceri nitrat có tác dụng điều trị các vết thương hoại tử do thiếu máu cục bộ của chi dưới và các tác dụng không mong muốn ở nhóm điều trị SSD- Ceri nitrat (mức độ đau, nhiễm khuẩn …) ít hơn so với nhóm điều trị theo quy trình chuẩn (p= 0,001) [108].

Darres A. và cs. (2019) nghiên cứu 71 BN Calciphylaxis thấy điều trị SSD- Ceri nitrat tại chỗ có tác dụng bảo vệ tổn thương cho người bệnh (OR=

0,44 [0,20; 0,99], p= 0,046). Các tác giả cho rằng ceri nitrat đào thải gốc tự do, ngăn ngừa nhiễm khuẩn và nên có tác dụng bảo vệ tổn thương [109].

** Tác dụng làm giảm tỷ lệ tử vong:*

Ceri nitrat được sử dụng như một chất khử khuẩn tại chỗ để điều trị vết thương bỏng và được cho là làm giảm tỷ lệ tử vong. Tuy nhiên, giảm tỷ lệ tử vong do bỏng không thể giải thích được bằng việc kiểm soát nhiễm khuẩn vết thương bỏng đơn thuần. Một số nghiên cứu cho rằng điều trị ceri nitrat làm giảm nồng độ cytokin, làm tỷ lệ T-cell helper/suppressor, giảm hoạt hóa bạch cầu, giảm rò rỉ đại phân tử và giảm phù nề đã góp phần làm giảm tỷ lệ tử vong [110], [111], [112].

Theo Garner J. P. và cs. (2005), cerium đã làm giảm tỷ lệ tử vong ở BN bỏng nặng do tác dụng tới hoại tử, làm đông vón và biến tính LPC [65].

Vehmeyer-Heeman M. và cs. (2007), đánh giá hiệu quả sử dụng SSD-Ceri nitrat, cắt bỏ hoại tử và ghép da thấy tỷ lệ tử vong giảm từ 13,7% (giai đoạn 1997-1983) xuống 4,7% (giai đoạn 1984-1990). Sử dụng SSD- Ceri nitrat cho phép cắt hoại tử và ghép da sớm cũng góp phần làm giảm tỷ lệ tử vong [113].

Wassermann D. và cs. (1989) nghiên cứu 11 BN bỏng (trung bình: 35 tuổi; 22- 65 tuổi), trên 50% diện tích cơ thể được điều trị bằng cream có chứa cerium nitrat (0,05 M) và SSD (0,03 M) (Ceri nitrat + SSD). Kết quả nghiên cứu cho thấy diện tích bỏng trung bình là 78% (50- 96%), diện tích bỏng sâu trung bình là 48% (10- 91%). Có 08 BN sống sót (73%): tuổi trung bình 36 tuổi; diện tích bỏng trung bình: 73%; diện tích bỏng sâu trung bình: 38%). Những kết quả này tốt hơn nhiều so với kết quả đạt được tại đơn vị nghiên cứu của chúng tôi trước đây, theo đó khi so sánh với những bệnh nhân được điều trị trước năm 1987, tỷ lệ sống sót đạt được trong nghiên cứu này là 34%. Phân tích 60 lần cấy máu dương tính thấy nhiều loại VK, bao gồm *S. aureus*, *Candida albicans* và *P. aeruginosa*. Cấy vết thương dương tính trong 72% mẫu và thấy *P. aeruginosa*

chiếm ưu thế (59%). Tỷ lệ sống sót cao ở những BN được điều trị, có lẽ là do hiệu quả bảo vệ của Ceri nitrat + SSD [110].

Scheidegger D. và cs. (1992) nghiên cứu 64 BN (16- 74 tuổi) có diện tích bỏng từ 30% đến 90%, được tắm một lần bằng ceri nitrat 0,04 M trong vòng 4 giờ sau khi nhập viện thấy trong số 21 BN từ 16-30 tuổi, có 01 BN tử vong (28 tuổi, diện tích bỏng 90%), và trong số các BN bỏng từ 31-74 tuổi có 02 BN tử vong (01 BN: 50 tuổi, diện tích bỏng 55% bị đa chấn thương; 01 BN khác (51 tuổi, diện tích bỏng 55% bị tắc nghẽn động mạch phổi ở ngày thứ 19). Phân tích nguy cơ tử vong ở 59 BN thấy 20 BN có nguy cơ từ 0,8 trở lên ở thang điểm diện tích bỏng sâu và 1,0 ở thang điểm diện tích bỏng toàn bộ. Nếu dự đoán 80% số BN tử vong trong số này thì chỉ có 02 BN tử vong. Các tác giả cho rằng tỷ lệ sống cao ở những BN có nguy cơ cao, vì vậy nên khuyến khích sử dụng ceri nitrat để điều trị vết thương bỏng nặng [112].

1.4.4. Độc tính và các tác dụng không mong muốn của ceri nitrat

Một trong những yếu tố thuận lợi để ceri nitrat được chấp nhận sử dụng rộng rãi trên lâm sàng chính là tính an toàn. Do kim loại đất hiếm không thấm trực tiếp qua màng tế bào động vật có vú nên ít xảy ra các tác dụng không mong muốn. Một số báo cáo sớm về khả năng độc tính của các nguyên tố nhóm Lanthanides đối với các đường khác nhau, với liều LD_{50} rất lớn bằng đường uống và liều thấp hơn đường tĩnh mạch [81], [114], [115].

Đa số các nghiên cứu trên động vật và lâm sàng cho thấy ceri nitrat có độc tính thấp và ít tác dụng không mong muốn [116], [117], [118], [119].

Boye T. và cs. (2006) cho rằng cream SSD- Ceri nitrat được sử dụng rộng rãi để điều trị bỏng tại chỗ. Tác dụng chính của Cerium là tạo ra quá trình vôi hóa bề mặt, làm giảm sự xâm nhập của VK ở vết thương và ngăn ngừa sự hình thành mô hạt (không hình thành sẹo phì đại) ở vết bỏng. Tuy nhiên, có thể gặp tổn thương dạng u hạt ở vùng bị bỏng điều trị bằng cream SSD- Ceri nitrat (Flammacerium), nhưng có thể điều trị khỏi bằng hydroxychloroquine [118].

Theo Kath M. A. và cs. (2011), Ceri nitrat kết hợp với SSD đã tạo ra vảy khô và ngăn chặn sự phát triển của VK. Tuy nhiên, một biến chứng toàn thân tiềm ẩn của SSD- Ceri nitrat là methemoglobin máu (Met-Hb) do bản chất oxy hóa của $Ce(NO_3)_3$, biến chứng này chỉ gặp 01 ca khi điều trị bằng ceri nitrat với diện tích bỏng lên tới hơn 95% [114].

Correia-Sá I. và cs. (2020) sử dụng SSD- Ceri nitrat điều trị vết thương bỏng do lửa độ II (diện tích bỏng 16%) cho 01 BN nữ 32 tuổi mang thai ở tuần thứ 27 thấy ceri nitrat không làm ảnh hưởng đến thai nhi [71].

1.4.5. Chế phẩm gel ceri nitrat

Gel ceri nitrat 2,2% được Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác bào chế, đóng gói dạng tuýp, trọng lượng 20g, đạt TCCS do Viện Kiểm nghiệm - Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội thẩm định chứng nhận có công thức như sau:

Thành phần		Trọng lượng
DƯỢC CHẤT		
1	Ceri nitrat 2,2%	22g
TÁ DƯỢC		
1	Hydroxypropyl methylcellulose 7%	75g
2	Polyvinyl alcol 3,5%	25g
3	Natri lauryl sulfat 0,2%	2g
4	Kolliphor 0,2%	2g
5	Glycerin 10%	100g
CHẤT BẢO QUẢN		
1	Nipagin 0,05%	0,5g
2	Nipasol 0,05%	0,5g
CHẤT ĐIỀU CHỈNH pH		
1	Natri hydroxyd 0,1M	20g
DUNG MÔI		
1	Nước cất	1000g

Đánh giá ban đầu cho thấy gel ceri nitrat có hiệu quả chống viêm, kháng khuẩn, làm khô hoại tử [119]. Tuy nhiên, để có thể sử dụng trên lâm sàng, cần có nhiều nghiên cứu tiếp theo nhằm đánh giá độc tính của sản phẩm mới (cấp, bán trường diễn), nghiên cứu in vitro kiểm định tác dụng khác, điều trị vết thương, vết bỏng thực nghiệm, để có thể bước đầu ứng dụng trên lâm sàng.

CHƯƠNG 2
ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG VÀ CHẤT LIỆU NGHIÊN CỨU

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu độc tính thuốc

- Nghiên cứu độc tính cấp: 120 chuột nhắt trắng (chủng Swiss) khỏe mạnh, không phân biệt giống, trọng lượng 20-22g.

- Nghiên cứu độc tính bán trường diễn: 20 chuột cống trắng khỏe mạnh, không phân biệt giống, trọng lượng 150-200g.

- Nghiên cứu kích ứng da của ceri nitrat: 03 thỏ khỏe mạnh, lông mượt, không mắc bệnh ngoài da, đường tiêu hóa, đủ tiêu chuẩn thí nghiệm, trọng lượng 2,0 ± 0,2 kg.

Động vật đủ tiêu chuẩn làm thí nghiệm, do Ban Cung cấp động vật thí nghiệm - Học viện Quân y cung cấp, được nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm 5 ngày trước khi được thử nghiệm, được ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi để nguội) uống tự do.

2.1.2. Đối tượng nghiên cứu hiệu quả kháng khuẩn

Chủng VK quốc tế, do Bộ môn Vi sinh vật - Học viện Quân y cung cấp bao gồm:

- *Escherichia coli ATCC* 25922
- *Proteus mirabilis BV* 108
- *Shigella flexneri DT* 112
- *Salmonella typhi DT* 220
- *Pseudomonas aeruginosa VM* 201
- *Staphylococcus aureus ATCC* 1128
- *Bacillus pumilus ATCC* 10241
- *Bacillus subtilis ATCC* 6633
- *Bacillus cereus ATCC* 9946; *Sarcina lutea.*

2.1.3. Đối tượng nghiên cứu điều trị bỏng thực nghiệm

Chuột cống trắng khỏe mạnh, không phân biệt giống, trọng lượng 150-200g. Động vật đủ tiêu chuẩn làm thí nghiệm, do Ban Cung cấp động vật thí nghiệm - Học viện Quân y cung cấp, được nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm 5 ngày trước khi được thử nghiệm được ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi để nguội) uống tự do.

Chuột cống trắng trong nghiên cứu bỏng thực nghiệm gồm 35 con, được chia thành 03 nhóm như sau:

+ Nhóm chuột thực nghiệm 1: 10 chuột điều trị tại chỗ tổn thương bỏng bằng dung dịch NaCl 0,9%

+ Nhóm chuột thực nghiệm 2: 10 chuột điều trị tại chỗ tổn thương bỏng bằng thuốc đối chứng, cream SSD 1%.

+ Nhóm chuột thực nghiệm 3: 15 chuột nhóm điều trị tại chỗ tổn thương bỏng bằng gel ceri nitrat 2,2%.

2.1.4. Đối tượng nghiên cứu điều trị bỏng trên lâm sàng

- Gồm 41 bệnh nhân bỏng được điều trị nội trú tại Khoa bỏng Người lớn, Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác, chia làm 2 nhóm:

+ Nhóm bệnh nhân bỏng nông: 21 bệnh nhân bỏng nông, lựa chọn đắp thuốc vùng bỏng độ III sâu.

+ Nhóm bệnh nhân bỏng sâu: 20 bệnh nhân có bỏng sâu, lựa chọn đắp thuốc vùng bỏng độ IV.

- Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân nghiên cứu:

+ BN bỏng do nhiệt, tuổi từ 16 đến 70 tuổi, diện tích bỏng < 40% diện tích cơ thể, vào viện trong vòng 72 giờ đầu sau bỏng.

+ BN đồng ý tình nguyện tham gia nghiên cứu.

- Tiêu chuẩn loại trừ:

+ Bệnh nhân có các bệnh lý mạn tính hoặc bị bệnh nhiễm trùng trước khi bị bỏng.

+ Bệnh nhân có chấn thương nặng kết hợp khi bị bỏng.

+ BN có diễn biến toàn thân nặng do biến chứng của bỏng như: sốc, nhiễm khuẩn huyết, sốc nhiễm khuẩn, suy thân, xuất huyết tiêu hóa, suy đa tạng.

+ Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.1.5. Chất liệu nghiên cứu

- Thuốc nghiên cứu: Gel Ceri nitrat 2,2% do khoa Dược, Bệnh viện Bỏng Quốc gia sản xuất, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

- Thuốc so sánh trên vi khuẩn kiểm định: Streptomycin sulfat nồng độ 16 IU/ml đối với VK Gram âm và Benzathin penicillin nồng độ 20 IU/ml đối với VK gram dương.

- Thuốc so sánh trong điều trị bỏng: Cream silver sulfadiazine 1% của Ấn Độ.

- Thuốc đối chứng trong điều trị bỏng: Nước muối sinh lý 0,9% của Xí nghiệp Dược phẩm Trung ương 2.

Hình 2.1. Thuốc nghiên cứu và thuốc so sánh

- Dụng cụ gây bỏng thực nghiệm trên chuột cống trắng: bình nhôm hình trụ, chiều cao 20 cm, đáy hình tròn, bằng phẳng, đường kính 2 cm (tương đương với diện tích 1 bên 3,14 cm^2). Trên chiều cao của bình có ghi dấu để biết các mức thể tích nước.

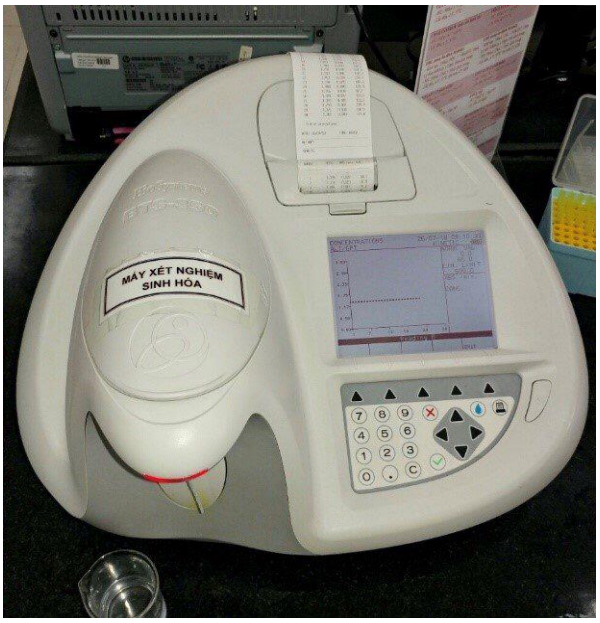
- Dụng cụ, môi trường nuôi cấy vi khuẩn: Môi trường canh thang và thạch thường;

- Máy đếm khuẩn lạc đánh giá tính kháng khuẩn của ceri nitrat.

- Máy xét nghiệm huyết học tự động (Swelab, Thủy Điển: Hình 2.2).

- Máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động (Biosystem BTS350: Hình 2.3).

Hình 2.2. Máy xét nghiệm huyết học tự động Swelab, Thủy Điển



Hình 2.3. Máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Biosystem BTS350

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp của ceri nitrat

Nghiên cứu độc tính cấp theo Hướng dẫn của Tổ chức Hợp tác Kinh tế và Phát triển (OECD-423, 2001) [120]. Sau đó quy đổi ra liều trên người: hệ số quy đổi là 12 (theo Reagan-Shaw S., 2007 [121]). Dựa theo quyết định số 371/BYT-QĐ ngày 12/3/1996 của Bộ Y tế và của WHO về xác định độ an toàn cho các chế phẩm có nguồn gốc thiên nhiên, chúng tôi sử dụng chuột nhắt trắng để đánh giá độc tính cấp của thuốc. Chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 12 con. Trước khi cho chuột uống thuốc, chuột bị bỏ đói trong 16 giờ. Tính liều LD_{50} theo phương pháp Behrens – Karber [122].

Chế phẩm nghiên cứu gel ceri nitrat 2,2% được chuẩn bị dưới dạng hỗn dịch và cân để cho chuột uống theo kg thể trọng trong vòng 24h, chuột được cho uống bằng cách dùng bơm tiêm bơm trực tiếp gel ceri nitrat vào khoang miệng với các mức liều như sau:

- Lô thử 1: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 2 g/kg TLCT/24giờ.
- Lô thử 2: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 8 g/kg TLCT/24giờ.
- Lô thử 3: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 12 g/kg TLCT/24giờ.
- Lô thử 4: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 16 g/kg TLCT/24giờ.
- Lô thử 5: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 20 g/kg TLCT/24giờ.
- Lô thử 6: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 24 g/kg TLCT/24giờ.
- Lô thử 7: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 28 g/kg TLCT/24giờ.
- Lô thử 8: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 32 g/kg TLCT/24giờ.
- Lô thử 9: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 36 g/kg TLCT/24giờ.
- Lô thử 10: uống hỗn dịch ceri nitrat liều 40 g/kg TLCT/24giờ.

Sau khi uống thuốc, chuột được nuôi dưỡng và theo dõi, ăn thức ăn tổng hợp do xưởng sản xuất thức ăn động vật thí nghiệm cung cấp, nước uống tự do. Quan sát từng cá thể chuột trong 30 phút đầu, sau 1 giờ, 4 giờ, 24 giờ và 14 ngày sau đó.

Các chỉ tiêu theo dõi:

+ Số chuột chết.

+ Tỷ lệ chuột có bất thường về vận động tự động (đi lại bình thường, co cụm một góc ở lồng nuôi chuột, rối loạn vận động).

+ Tỷ lệ chuột có biểu hiện co giật, run, vã mồ hôi, tím tái.

+ Tỷ lệ chuột có thay đổi bất thường về tiêu hóa (ỉa chảy).

Vào ngày 14, phẫu tích chuột, làm xét nghiệm mô bệnh học gan, thận và lách chuột thực nghiệm.

Nghiên cứu độc tính cấp được tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng Y dược học Quân sự, Học viện Quân y.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu độc tính bán trường diễn của ceri nitrat

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn theo Hướng dẫn của Tổ chức Hợp tác Kinh tế và Phát triển (OECD-407, 2008) [123]. Sau đó quy đổi ra liều trên người: hệ số quy đổi là 6 (theo Reagan-Shaw S., 2007 [121]).

Nghiên cứu thực hiện trên chuột cống trắng, trọng lượng 150- 200g, 20 chuột cống trắng được chia thành 2 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô chứng: uống nước muối sinh lý NaCl 0,9% liều 1g/kg trọng lượng/24 giờ (tương đương 0,1g/100g chuột/24 giờ).

- Lô nghiên cứu: uống gel ceri nitrat với liều 1g/kg trọng lượng/24 giờ (0,1g/100g chuột/24 giờ gel ceri nitrat).

Cơ sở tính liều:

Căn cứ kết quả nghiên cứu độc tính cấp của gel ceri nitrat đã tiến hành (chuột nhắt uống liều tối đa 40 g/kg thể trọng không gây độc), lựa chọn liều 1 g/kg/24 giờ để đánh giá độc tính bán trường diễn ở nghiên cứu này. Chuột được cho uống liều duy nhất, hàng ngày vào buổi sáng trước khi cho ăn. Sau đó được quan sát, theo dõi hàng ngày, trong 28 ngày. Nếu kết quả cho thấy tại mức liều này có độc tính thì phải tiến hành tiếp trên dãy các liều giảm dần. Nếu tại mức liều này mà không độc thì không cần làm ở các mức liều giảm dần.

- Chỉ tiêu nghiên cứu:

+ Các biểu hiện lâm sàng hàng ngày, tình trạng ăn, uống của chuột.

+ Trọng lượng chuột tại các tuần thứ 1; 2; 3; 4 trong các lô nghiên cứu. Chuột để đói qua đêm trước khi cân. Phân tích đánh giá khối lượng các lô chuột. Theo dõi thể trạng chung, lông, hoạt động của động vật.

+ Huyết học: hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, huyết sắc tố, Hematocrit.

+ Sinh hóa: SGOT, SGPT, GGT, creatinin, tổng số protein.

Các xét nghiệm sinh hóa, huyết học được tiến hành tại 3 thời điểm (bắt đầu nghiên cứu, sau nghiên cứu 2 tuần và 4 tuần).

+ Mô bệnh học: vào ngày thứ 28, gây mê chuột, phẫu tích quan sát hình ảnh đại thể gan, lách, thận. Sau đó sinh thiết các tạng để nghiên cứu hình ảnh mô bệnh học của tất cả các động vật thực nghiệm.

Xét nghiệm về mô học (đại thể và vi thể) của động vật được tiến hành mỗi khi có động vật chết trong quá trình nghiên cứu và động vật bị giết chết sau khi đã kết thúc đợt thí nghiệm.

Các chỉ tiêu trên đều được tiến hành trong cùng điều kiện, so sánh giữa nhóm chuẩn (nuôi trong điều kiện tự nhiên) và nhóm thử (uống gel ceri nitrat).

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn được tiến hành tại Phòng Dược học và các hợp chất tự nhiên, Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng Y dược học Quân sự, Học viện Quân y.

2.2.3. Phương pháp nghiên cứu tính kích ứng da của gel ceri nitrat

Nghiên cứu tính kích ứng da của ceri nitrat theo Hướng dẫn của OECD về thử độ kích ứng da (OECD 404, 2015) [124].

Nghiên cứu thực hiện trên 3 thỏ khỏe mạnh, lông mượt, không mắc bệnh ngoài da và bệnh đường tiêu hóa, trọng lượng 2,0 ± 0,2 kg. Trước ngày tiến hành nghiên cứu, thỏ được cạo sạch lông phần lưng, tránh làm tổn thương da thỏ, chỉ sử dụng thỏ khỏe mạnh, không bị tổn thương da. Trên mỗi thỏ, mỗi bên tại vùng da lưng đã cạo đặt một gạc thuốc thử và thuốc chứng tẩm

0,5 ml dung dịch. Trong nghiên cứu này, quy định bên phải đặt gạc tẩm 0,5g gel ceri nitrat, bên trái đặt thuốc chứng là nước cất. Lượng chất thử được thấm đều vào miếng gạc đã tiệt trùng có diện tích 2,5cm x 2,5cm. Thuốc được đặt trên một tấm gạc nhỏ, tiếp xúc trực tiếp với da, được giữ bằng băng dính y tế. Nghiên cứu được tiến hành theo hai giai đoạn:

** Giai đoạn 1: Test thăm dò (initial test), tiến hành trên 1 thỏ:*

Đặt 3 tấm gạc có chứa thuốc thử trên da thỏ. Tấm gạc thứ nhất được gỡ ra sau 3 phút. Nếu không có phản ứng kích ứng da hoặc ăn mòn da, tấm gạc thứ 2 được đặt tại một vị trí khác và được gỡ bỏ sau 1 giờ. Nếu không có phản ứng kích ứng hoặc ăn mòn da xuất hiện, tấm gạc chứa thuốc thứ 3 được đặt tại vị trí thứ 3 và được gỡ bỏ sau 4 giờ. Nếu có bất kỳ biểu hiện ăn mòn da của thuốc, thí nghiệm được dừng lại. Nếu không có biểu hiện kích ứng, ăn mòn da, thỏ được tiếp tục quan sát sau 14 ngày.

+ Vùng so sánh: đặt gạc có tẩm nước cất, sau 4 giờ, rửa vị trí đặt thuốc bằng nước cất và theo dõi tiếp trong 14 ngày.

+ Trong trường hợp thuốc không gây ăn mòn da, nhưng gây kích ứng, tiến hành đặt gạc thuốc cho một thỏ khác trong 4 giờ.

** Giai đoạn 2: Test xác nhận (Confirmatory test), tiến hành trên 2 thỏ khác.*

+ Nếu các biểu hiện kích ứng, ăn mòn da không xuất hiện trong test thăm dò, tiếp tục thử thuốc với 2 thỏ khác, mỗi thỏ đặt một gạc thuốc trong 4 giờ. Đánh giá các dấu hiệu kích ứng da và phù nề tại các thời điểm 1 giờ; 24 giờ; 48 giờ; 72 giờ sau khi gỡ tấm gạc thuốc. Vùng so sánh: Đặt gạc có tẩm nước cất, sau 4 giờ, rửa vị trí đặt thuốc bằng nước cất và theo dõi tiếp trong 14 ngày.

+ Thỏ được quan sát trong 14 ngày, nuôi dưỡng theo chế độ bình thường. Thí nghiệm được kết thúc nếu có bất cứ biểu hiện tổn thương da xuất hiện.

** Đánh giá kết quả:*

Đáp ứng kích ứng được đánh giá theo thang điểm của OECD. Tính điểm số trung bình (gồm cả điểm số xuất hiện ban đỏ và điểm số biểu hiện phản ứng phù nề) của 3 thỏ tại từng thời điểm 1 giờ; 24 giờ; 48 giờ; 72 giờ sau khi gỡ tấm gạc thuốc. Sau đó tính điểm số trung bình các giá trị tại 4 thời điểm này để tính chỉ số kích ứng (*Irritation index*, PII). Đối chiếu điểm kích ứng với các mức độ quy định để xác định khả năng gây kích ứng trên da thỏ của mẫu thử (Bảng 2.1) [124].

Bảng 2. 1. Đánh giá và phân loại kích ứng trên da thỏ

Đánh giá và phân loại kích ứng trên da thỏ		Điểm
Đánh giá sự xuất hiện ban đỏ và vẩy tại vùng da tiếp xúc thuốc	- Không xuất hiện ban đỏ	0
	- Xuất hiện ban đỏ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
	- Ban đỏ nhìn thấy rõ	2
	- Ban đỏ vừa phải tới nghiêm trọng	3
	- Ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) tới hình thành vẩy để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ	4
Đánh giá biểu hiện phản ứng phù nề	- Không phù nề	0
	- Phù nề rất nhẹ (có thể phát hiện thấy)	1
	- Phù nề nhẹ (có thể thấy các viền xung quanh)	2
	- Phù nề vừa phải (có các viền khoảng 1mm)	3
	- Phù nề nghiêm trọng (phù nề tạo các viền trên 1mm và trải rộng toàn bộ khu vực tiếp xúc thuốc)	4
Loại phản ứng	Kích ứng không đáng kể	0- 0,5
	Kích ứng nhẹ	>0,5- 2
	Kích ứng vừa phải	>2,0- 5
	Kích ứng nặng	>5,0- 8

** Nguồn: Theo OECD/OCDE 404 (2015) [124].*

Nghiên cứu tính kích ứng da của gel ceri nitrat được tiến hành tại Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y.

2.2.4. Đánh giá khả năng kháng khuẩn của ceri nitrat

2.2.4.1. Phương pháp đánh giá khả năng kháng khuẩn của gel ceri nitrat

Phương pháp khuếch tán trên thạch, bằng các khoanh giấy lọc vô trùng và đã được sấy khô được tẩm dung dịch mẫu thử:

- Nguyên tắc: Mẫu thử được đặt lên lớp thạch dinh dưỡng đã cấy vi sinh vật kiểm định, hoạt chất từ mẫu thử khuếch tán vào môi trường thạch sẽ ức chế sự phát triển của vi sinh vật kiểm định tạo thành vòng vô khuẩn.

- Tiến hành: Các khoanh giấy lọc vô trùng và đã được sấy khô được tẩm với 3 lần với dung dịch mẫu thử, sau mỗi lần tẩm các khoanh giấy lọc có chứa mẫu thử đều được sấy ở nhiệt độ dưới 60^{o}C đến khô hết dung môi.

Chuẩn bị môi trường và cấy vi sinh vật kiểm định: vi sinh vật kiểm định được cấy vào môi trường canh thang, nuôi cấy cho phát triển trong tủ ấm 37^{o}C trong 18-24 giờ đến nồng độ 10^7 tế bào/ml (kiểm tra bằng pha loãng và dãy dịch chuẩn). Môi trường thạch thường vô trùng (tiệt trùng 118^{o}C/30 phút) được làm lạnh về 45-50^{0}C và được cấy giống vi sinh vật kiểm định vào với tỷ lệ 2,5 ml/ 100 ml. Lắc tròn để vi sinh vật kiểm định phân tán đều trong môi trường thạch thường rồi đổ vào đĩa petri vô trùng với thể tích 20ml/đĩa, để cho thạch đông lại.

Đặt khoanh giấy lọc: Khoanh giấy lọc đã được tẩm chất thử và xử lý như trên được đặt lên bề mặt môi trường thạch thường chứa vi sinh vật kiểm định theo sơ đồ định sẵn.

Ủ các đĩa petri có mẫu thử được đặt như trên trong tủ ấm ở nhiệt độ = 37^{o}C trong 18- 24 giờ, sau đó lấy ra đọc kết quả, đo đường kính vòng vô khuẩn nếu có (thước kẹp Panmer độ chính xác 0,02 mm).

- Đánh giá kết quả: Dựa vào đường kính vòng vô khuẩn và được đánh giá theo công thức sau:

$$\bar{D} = \frac{\sum_{i=1}^{n} D_i}{n} \quad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (D_i - \bar{D})^2}{n-1}}$$

$\bar{D}$: Đường kính trung bình vòng vô khuẩn (mm);

D_i: Đường kính vòng vô khuẩn (mm)

s: Độ lệch thực nghiệm chuẩn có hiệu chỉnh

n: Số thí nghiệm làm song song.

2.2.4.2. Phương pháp xác định nồng độ tối thiểu ức chế vi khuẩn của gel ceri nitrat

- Nguyên lý: Các thuốc thử được pha loãng thành các nồng độ khác nhau, trộn với 1 lượng VK nhất định ở nồng độ nhất định. Sau đó, hỗn dịch thuốc - VK được cấy thành các đường tương ứng với các nồng độ thuốc trên đĩa thạch ở các thời điểm khác nhau. Sau khi ủ ấm ở nhiệt độ thích hợp và thời gian qui định, định lượng VK mọc trên các đĩa thạch có các nồng độ thuốc ở các thời điểm khác nhau thông qua so sánh với đĩa chuẩn là đĩa thạch cấy các nồng độ VK không có thuốc được hạ bậc từ 10^8-10^2 VK/ml.

- Phương pháp tiến hành

+ Bước 1: Mẫu thuốc thử (gel ceri nitrat) được pha trong canh thang BHI thành các độ loãng: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 so với mẫu nguyên ban đầu.

+ Bước 2: Các chủng VK được pha trong nước muối sinh lý thành hỗn dịch 10^8 VK/ml, sau đó lại pha loãng tiếp thành các nồng độ 10^7, 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2 VK/ ml.

+ Bước 3: Trộn hỗn dịch VK 10^8 /ml với các nồng độ thuốc đã pha loãng ở bước 1 theo tỷ lệ 1:1 (nồng độ thuốc cuối cùng lúc này 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 và 1/128) (mỗi chủng VK cho một dãy pha loãng như trên), ủ 37^o C, sau các thời điểm 2h, 6h, 24 giờ tiếp xúc của thuốc với VK lấy ra dùng loop định lượng cấy trên thạch Nutrient agar.

Mỗi chủng VK ở các nồng độ VK $10^{8,}$ 10^{7}, 10^{6} , $10^{5,}$ $10^{4,}$ $10^{3,}$ 10^{2} VK/ ml ở bước 2 cũng được cấy trên thạch Nutrient agar để tạo thành các đĩa thạch nồng độ chuẩn VK đối chiếu với các đĩa thạch có thuốc tác dụng với VK.

Tất cả các đĩa thạch sau cấy được đặt trong tủ ấm 37^{o} C, sau 24 giờ lấy ra đọc kết quả.

- Phân tích kết quả: Trước tiên đọc kết quả ở các đĩa thạch đối chiếu không có thuốc thử để kiểm tra sự thuần khiết của chủng và đảm bảo chủng không bị chết trước khi tiến hành thử nghiệm. Nếu các chủng đảm bảo mọc tốt, thuần khiết và tỷ lệ mọc tương ứng với nồng độ đưa vào thì mới tiếp tục đọc kết quả của mẫu thử nghiệm. Đọc kết quả của mẫu thử nghiệm bằng cách đối chiếu số lượng VK mọc trên đĩa cấy hỗn dịch thuốc thử- VK ở các nồng độ thuốc khác nhau, giờ tiếp xúc khác nhau với số lượng VK mọc trên đĩa thạch không có thuốc.

- Nồng độ tối thiểu ức chế VK (Minimum Inhibitory Conghiên cứuentration: MIC) được xác định ở nồng độ thấp nhất của thuốc mà ở đó mật độ VK giảm hẳn chỉ còn 1-3 khuẩn lạc mọc.

- Nồng độ tối thiểu diệt khuẩn (Minimum Bactericidal Conghiên cứuentration: MBC) được ghi nhận ở nồng độ thấp nhất của thuốc không có VK mọc.

Ngoài ra, với mỗi nồng độ và thời gian tiếp xúc của thuốc còn ghi nhận được số lượng VK giảm bao nhiêu lần so với khi chưa tiếp xúc với thuốc.

Đánh giá khả năng kháng khuẩn in vitro của gel ceri nitrat tại Bộ môn Vi sinh vật - Học viện Quân y.

2.2.5. Phương pháp đánh giá tác dụng điều trị của gel ceri nitrat trên bỏng thực nghiệm

2.2.5.1. Gây bỏng thực nghiệm

Gây bỏng trên động vật thực nghiệm tiến hành theo phương pháp của Podidalo J.J. và CS. (1955), Hladovec J. (1961) và được ứng dụng và mô tả

chi tiết về diện tích, độ sâu trong công trình nghiên cứu của Nguyễn Thị Tỵ (1989) [125]. Kỹ thuật gây bỏng thực nghiệm được thực hiện tại Khoa Dược lý - Học viện Quân y. Quy trình gây bỏng như sau:

- Chuột được gây mê bằng tiêm bắp đùi Ketamine hydroclorid 500mg/ml với liều lượng 70mg/1kg cân nặng.

- Dùng bình đựng nước sôi bằng nhôm hình trụ, chiều cao 20 cm, đáy hình tròn, bằng phẳng, đường kính 2 cm (tương đương với diện tích 1 bên 3,14 cm^2). Trên chiều cao của bình có ghi dấu để biết các mức thể tích nước.

- Cho nước sôi 100^0C đến độ cao 10 cm, đặt lên vùng da đã chuẩn bị, tại hai bên cột sống của chuột, vùng da chuẩn bị được cao sạch lông.

- Áp đáy bình đựng nước sôi gây bỏng vào bề mặt da lưng của chuột, thời gian gây bỏng là 30 giây. Mỗi chuột tạo 2 vết bỏng ở hai bên lưng.

- Sau gây bỏng, vùng da tổn thương có hình tròn, màu trắng bệch, da xung quanh vùng tổn thương xung huyết. Sau gây bỏng 3- 5 phút, chuột tỉnh trở lại do tác dụng ngắn của thuốc gây mê.

- Tổn thương bỏng đồng nhất trên tất cả các chuột nghiên cứu về độ sâu và diện tích tổn thương. Độ sâu tổn thương bỏng đồng nhất từ độ III sâu (vùng rìa tổng thương) đến độ IV (vùng diện tích bỏng chính thức).

- Sau khi gây bỏng, chuột được chia làm 3 nhóm (mục 2.1.3), mỗi chuột có 2 vết bỏng.

2.2.5.2. Quy trình thay băng, đắp thuốc điều trị bỏng thực nghiệm

Tất cả chuột cống trắng trong nghiên cứu gồm 35 con, được chia thành 03 nhóm như sau:

+ Nhóm 1: nhóm điều trị tại chỗ tổn thương bỏng bằng dung dịch NaCl 0,9% (10 chuột = 20 vết bỏng).

+ Nhóm 2: nhóm điều trị tại chỗ tổn thương bỏng bằng thuốc đối chứng, cream SSD 1% (10 chuột = 20 vết bỏng).

+ Nhóm 3: nhóm điều trị tại chỗ tổn thương bỏng bằng gel Ceri nitrat 2,2% (15 chuột = 30 vết bỏng).

- Tất cả chuột sau gây bỏng được đánh số thứ tự, lập phiếu đăng ký theo dõi diễn biến và đắp thuốc 1 lần/ngày cho đến khi khỏi.

- Quy trình đắp thuốc: Từ ngày thứ nhất sau gây bỏng (D1), hàng ngày tẩm thuốc vào gạc, đắp lên vết bỏng, đắp 4 lớp gạc vô khuẩn, băng kín. Dùng băng dính to bản cố định sau băng để tránh tụt băng gạc do chuột chạy nhảy, do dùng mồm để cởi bỏ băng gạc hoặc liếm vết bỏng.

Hình 2.4. Dụng cụ gây bỏng thực nghiệm

(Dụng vụ gây bỏng (A); Kiểm tra nhiệt độ (B); Gây bỏng cho chuột cống (C))

- Kỹ thuật được thực hiện tại khoa Dược lý, Học viện Quân y.

2.2.5.3. Các chỉ tiêu đánh giá

a) Chỉ tiêu lâm sàng: được theo dõi hàng ngày.

- Tình trạng chung, hoạt động, ăn uống.

- Trọng lượng cơ thể.

- Diễn biến lâm sàng:

+ Tình trạng viêm nề viền mép và da lành: Với các biểu hiện như da lành phù nề, nóng đỏ, đau, có thể xuất hiện ban đỏ, đau tại chỗ nhiều.

+ Tình trạng dịch tiết, dịch mủ thấm ra lớp ngoài băng gạc và giả mạc tại vết bỏng. Đánh giá tình trạng tiết dịch theo 4 mức độ:

. Mức độ nhiều: Dịch tiết, dịch mủ thấm ra toàn bộ lớp băng gạc.

. Mức độ vừa: Dịch tiết, dịch mủ thấm đến lớp gạc ở phía trong.

. Mức độ ít: Dịch tiết, dịch mủ chỉ thấm đến lớp gạc trong cùng.

. Hết dịch: Bề mặt tổn thương khô. Tình trạng dị ứng tại chỗ, biểu hiện nổi mẩn ngứa, viêm nề…

- Tính chất hoại tử: Hoại tử ướt hay hoại tử khô.

+ Thời gian bắt đầu chuyển hoại tử ướt sang hoại tử khô: Được tính từ khi đắp thuốc điều trị đến khi hoại tử chuyển khô.

+ Thời gian rụng hoại tử: Tính từ khi đắp thuốc đến khi rụng hoại tử.

- Diện tích tổn thương:

+ Đo ở các thời điểm: D1, D7, D14, D21, D28

Phương pháp tính diện tích bỏng (cm^2): trước khi đắp thuốc nghiên cứu, dùng giấy bóng kính vô khuẩn (đã kẻ sẵn những ô vuông $1cm^2$) áp lên vết bỏng, dùng bút dạ vẽ lên giấy bóng kính theo mép vết bỏng. Vào ngày thứ 5-7 và 10-14 tiến hành vẽ lại diện tích bỏng (lần thứ 2 và thứ 3) đối với những vết bỏng còn chưa liền trên cùng một giấy bóng kính ban đầu bằng các mẫu mực khác nhau (đỏ, xanh, đen). Mỗi vết bỏng nghiên cứu được sử dụng 1 tờ giấy bóng kính riêng rẽ.

+ Thời gian điều trị: tính từ khi đắp thuốc đến khi khỏi.

+ Thời gian biểu mô hóa 50%: tính từ khi gây bỏng đến khi biểu mô hóa được 50% vết bỏng.

+ Tốc độ liền vết thương: tính bằng diện tích vết bỏng thu hẹp (mm^2)/ngày.

b) Chỉ tiêu cận lâm sàng:

** Xét nghiệm huyết học, hóa sinh máu:* Tiến hành ở các thời điểm trước nghiên cứu, sau nghiên cứu 7 ngày và sau nghiên cứu 21 ngày.

- Số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu và hemoglobin.

- Hoạt độ SGOT, SGPT, nồng độ creatinin, urê máu.

** Xét nghiệm vi sinh vật:*

Tại vết bỏng, cấy khuẩn và định danh VK ở các thời điểm nghiên cứu: sau bỏng 3 ngày, 7 ngày và 14 ngày.

- Kỹ thuật cấy khuẩn xác định số lượng và chủng loại VK: Theo kỹ thuật của Ivanv A. N. và Danilova E. G. Dùng một miếng nhựa plastic vô khuẩn đã đục lỗ sẵn với diện tích 1cm^2, đặt miếng nhựa lên bề mặt vết bỏng. Dùng tăm bông vô khuẩn nhúng ướt trong nước muối sinh lý 0,9% vô khuẩn lăn nhẹ nhàng theo hình lỗ đục của miếng nhựa. Lăn đều tay, chậm sao cho dịch tiết vết bỏng thấm toàn bộ chu vi tăm bông, thời gian lăn là 30 giây. Cho tăm bông vào ống nghiệm có chứa 5ml nước muối 0,9% [126].

- Xác định số lượng VK: Dùng loope định lượng loại 1 µl đã được khử trùng bằng đèn cồn, chờ nguội, lấy 1 loope dung dịch nước muối nói trên cấy lên môi trường thạch thường, ủ ấm đĩa thạch. Đếm số lượng khuẩn lạc sau 18 giờ. Số lượng VK tính theo công thức:

+ Số lượng VK/cm^2 bề mặt vết bỏng = Số khuẩn lạc × 10^3 × 5

+ Xác định loài VK: dùng que cấy lấy một ít khuẩn lạc làm tiêu bản nhuộm gram. Làm các thử nghiệm vi sinh vật xác định giống và loài VK theo kỹ thuật thường quy của labo vi sinh.

** Xét nghiệm mô bệnh học:*

- Bệnh phẩm được lấy bằng dụng cụ sinh thiết (Biopsy Punch) có đường kính 2mm ở 4 thời điểm trước khi điều trị, sau điều trị 3 ngày, 7 ngày và 14 ngày tại vùng rìa (giáp ranh vùng lành và vùng tổn thương).

Hình 2.5. Dụng cụ sinh thiết (Biopsy Punch) dùng trong nghiên cứu

- Kỹ thuật sinh thiết: dùng 2 ngón tay của bàn tay trái để căng da, đầu dao được ấn xuống vùng sinh thiết một cách dứt khoát và vừa xoay vừa ấn nhanh liên tiếp. Khi dao khoan đi qua lớp bì để vào lớp mỡ, lực cản thường giảm đi nên ta có cảm giác nhẹ tay. Mẫu bệnh phẩm được gắp ra một cách nhẹ nhàng bằng panh hoặc nỉa, cắt ở đáy bằng dao hoặc kéo.

- Bệnh phẩm sau khi lấy được cố định trong dung dịch formol 10%.

- Pha bệnh phẩm, lấy ở vùng nghi ngờ tổn thương.

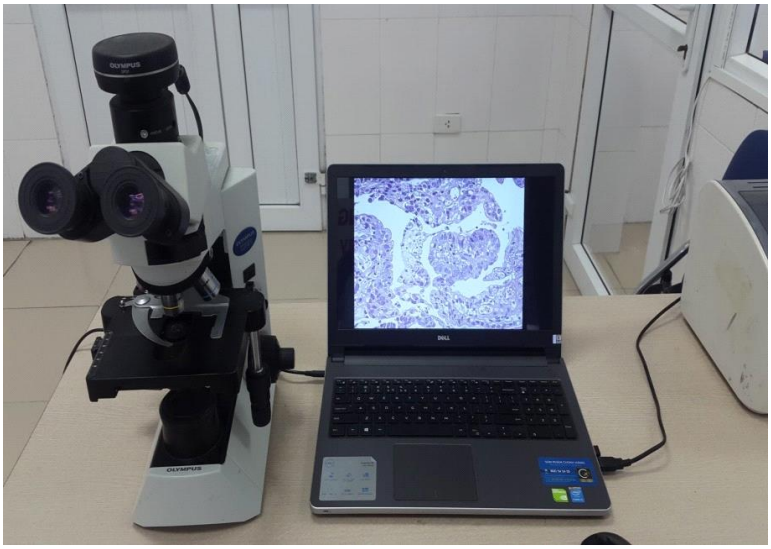
- Xử lý bệnh phẩm bằng máy xử lý mô tự động.

- Vùi bệnh phẩm trong paraffin bằng máy đúc nến.

- Cắt mảnh với độ dày 3-4 µm.

- Nhuộm tiêu bản bằng Hematoxylin và Eosin (H.E), dán tiêu bản.

- Nhận xét vi thể: các tiêu bản được đọc trên kính hiển vi quang học với độ phóng đại 40 - 400 lần. Chụp ảnh các tiêu bản điển hình minh họa tổn thương.



Hình 2.6. Kính hiển vi quang học OLYMPUS CX41 có hệ thống chụp ảnh

- Chỉ tiêu đánh giá mô bệnh học tổn thương bỏng: thay đổi cấu trúc vi thể, hình thái tế bào. Xác định các tình trạng: loét, phù nề, xung huyết, xuất huyết; xâm nhiễm các tế bào viêm (lympho, đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính); tình trạng hoại tử; đánh giá sự tăng sinh tế bào sợi; hình thành mô hạt.

- Xét nghiệm giải phẫu bệnh gan, thận, lách được đánh giá khi kết thúc nghiên cứu:

+ Gan: Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan thoái hóa, hoại tử, tĩnh mạch trung tâm, các xoang mạch trong gan (xung huyết), khoảng cửa (tình trạng phù nề, xung huyết, xâm nhiễm các tế bào viêm đơn nhân và đa nhân), tình trạng tăng sinh ống mật, xơ hóa, hoại tử tơ huyết.

+ Thận: Tình trạng tổn thương cầu thận, tăng sinh tế bào gian mạch, hyalin mạch máu, tình trạng ống thận và tế bào ống thận, xung huyết, xuất huyết, lắng đọng các trụ trong ống thận, xâm nhiễm viêm, xơ hóa mô kẽ.

+ Lách: Tình trạng xung huyết, xuất huyết xoang tĩnh mạch, sự tăng sinh các tế bào võng.

Xét nghiệm mô bệnh học được thực hiện tại khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y.

2.2.6. Phương pháp đánh giá tác dụng của gel ceri nitrat trên lâm sàng

2.2.6.1. Thiết kế nghiên cứu

- Nghiên cứu tiến cứu, thử nghiệm lâm sàng có đối chứng, so sánh trước và sau điều trị. Sử dụng thuốc đối chứng trên cùng một BN.

- Nghiên cứu tiến hành trên 21 BN bỏng nông (độ III sâu) và 20 BN bỏng sâu (độ IV).

2.2.6.2. Phương pháp lựa chọn diện vị trí, tích bỏng nghiên cứu

- Trên cùng một BN, chọn 2 vùng có diện tích và độ sâu tương đương hoặc trên cùng một vết bỏng chia thành hai vùng có diện tích và độ sâu tương đương. Vùng nghiên cứu (Vùng A): điều trị bằng gel ceri nitrat 2,2%; Vùng so sánh (Vùng B): điều trị bằng cream SSD 1%.

- Diện tích nghiên cứu mỗi vùng từ 1% đến 5% diện tích cơ thể.

- Phương pháp tính diện tích bỏng (cm^2): trước khi đắp thuốc nghiên cứu, dùng giấy bóng kính vô khuẩn (đã kẻ sẵn những ô vuông $1cm^2$) áp lên vết bỏng, dùng bút dạ vẽ lên giấy bóng kính theo mép vết bỏng. Vào ngày thứ 5-7 và 10-14 tiến hành vẽ lại diện tích bỏng (lần thứ 2 và thứ 3) đối với những vết bỏng còn chưa liền trên cùng một giấy bóng kính ban đầu bằng các mẫu mực khác nhau (đỏ, xanh, đen). Mỗi vết bỏng nghiên cứu được sử dụng 1 tờ giấy bóng kính riêng rẽ.

2.2.6.3. Phương pháp thay băng đắp thuốc vết thương bỏng

Bệnh nhân sau khi được giảm đau hoặc gây mê thay băng theo qui trình, tiến hành thay băng bỏng như sau.

- Quy trình thay băng, sử dụng thuốc đảm bảo nguyên tắc vô trùng.

- Rửa sạch da lành xung quanh tổn thương bỏng bằng nước muối sinh lý 0,9%, sát trùng bằng cồn 70^o. Rửa vết thương bằng nước muối sinh lý 0,9%. Lấy bỏ giả mạc, hoại tử. Thấm khô vết thương bằng gạc vô khuẩn.

- Vùng nghiên cứu (vùng A): đắp gạc tẩm gel ceri nitrat 2,2% lên vết bỏng (khoảng 8-10g thuốc/150cm^2 gạc). Vùng đối chứng (vùng B): đắp gạc tẩm cream SSD 1% với số lượng tương tự.

- Đắp 4- 6 lớp gạc vô khuẩn lên trên lớp gạc thuốc, băng kín, ép nhẹ để giữ gạc thuốc.

- Thay băng mỗi ngày một lần cho tới khi khỏi ở vùng bỏng độ III sâu hoặc tới khi phẫu thuật cắt hoại tử, ghép da ở vùng bỏng độ IV.

2.2.6.4. Các chỉ tiêu theo dõi đánh giá

a) Các chỉ tiêu lâm sàng

- Các chỉ tiêu chung về đặc điểm bệnh nhân và tình trạng toàn thân.

+ Tuổi, giới, tác nhân bỏng (nhiệt ướt, nhiệt khô), diện tích, vị trí bỏng.

+ Diễn biến toàn thân trong quá trình điều trị: theo dõi mạch, nhiệt độ, huyết áp trước khi thay băng và vào16 giờ 00 hàng ngày; theo dõi các biểu hiện rối loạn toàn thân khác, dị ứng.

- Theo dõi tại chỗ vết bỏng: Theo dõi hàng ngày các triệu chứng sau.

+ Cảm giác đau khi đắp thuốc: Được đánh giá theo cảm giác chủ quan của BN qua thang điểm 5 bậc của Frank A. (1982), kết hợp với phương pháp Lê Thế Trung quan sát biểu hiện đau ở mặt của BN [3]:

. Không đau: không kêu đau + nét mặt bình thường

. Đau nhẹ: kêu đau ít + nhăn mặt

. Đau vừa: kêu đau vừa+ nhăn mặt + rên khẽ

. Đau nhiều: nhăn mặt + kêu đau nhiều + khóc

. Đau rất nhiều: nhăn mặt + la hét + dãy dụa

Thời gian đau kéo dài sau mỗi lần đắp thuốc được tính từ khi bắt đầu đắp thuốc vào vết bỏng cho đến khi cảm giác đau giảm bằng mức độ trước khi đắp thuốc.

+ Tình trạng viêm nề viền mép và da lành: Được xác định khi có các biểu hiện như da lành phù nề, nóng đỏ, đau hoặc xuất hiện ban đỏ.

+ Tình trạng dịch tiết, dịch mủ thấm ra lớp ngoài băng gạc và giả mạc tại vết bỏng. Đánh giá tình trạng tiết dịch theo 4 mức độ: nhiều, vừa, ít, hết dịch (như mô tả tại mục 2.2.4.2).

+ Tình trạng dị ứng tại chỗ: Biểu hiện nổi mẩn ngứa, nề.

+ Tính chất hoại tử: Hoại tử ướt hay hoại tử khô.

Thời gian bắt đầu chuyển hoại tử ướt sang hoại tử khô: Được tính từ khi đắp thuốc điều trị đến khi hoại tử chuyển khô.

Thời gian rụng hoại tử: Được tính từ khi đắp thuốc điều trị đến khi hoại tử rụng.

+ Quá trình biểu mô:

Thời gian bắt đầu biểu mô: Tính từ khi bị bỏng đến khi có biểu hiện biểu mô hóa từ bờ mép vết thương vào trong, hoặc nhìn thấy đảo biểu mô (đối với bỏng độ III sâu)

Thời gian biểu mô hóa hoàn toàn: Tính từ khi bị bỏng đến khi tổn thương bỏng khỏi.

- Số ngày điều trị: Tính từ khi bắt đầu nghiên cứu đến khi vết thương khỏi hoàn toàn.

- Thời điểm ghép da, kết quả ghép da (đối với bỏng sâu):

+ Tốt: mảnh da ghép bám sống > 90%

+ Khá: mảnh da ghép bám sống từ 70% - <90%

+ Trung bình: mảnh da ghép bám sống từ 50% - <70%

+ Xấu: mảnh da ghép bán sống <50%

b) Các chỉ tiêu cận lâm sàng

** Các chỉ tiêu huyết học và hóa sinh máu gồm:*

- Huyết học: xét nghiệm hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu, công thức bạch cầu, tiểu cầu.

- Sinh hóa: ure, glucose, creatinin, SGOT, SGPT, protein, albumin.

Các chỉ tiêu huyết học và sinh hóa máu được xét nghiệm tại 3 thời điểm là trước khi dùng thuốc, sau dùng thuốc 1 tuần và sau dùng thuốc 2 tuần.

** Xét nghiệm vi sinh vật:*

- Cấy khuẩn vết thương bỏng được thực hiện vào trước khi dùng thuốc, sau dùng thuốc 1 tuần và sau dùng thuốc 2 tuần.

- Kết quả cấy khuẩn: Xác định loài vi khuẩn và số lượng vi khuẩn trên 1cm^2 mọc trên vết thương bỏng ở mỗi vùng nghiên cứu (vùng A và vùng B).

Cấy khuẩn xác định số lượng và chủng loại VK theo kỹ thuật của Ivanv A.N. và Danilova E.G. (phương pháp cấy khuẩn tương tự tại mục 2.2.5.2) [126].

** Xét nghiệm mô bệnh học:*

➢ Làm tiêu bản áp đối với BN bỏng độ III sâu:

- Bệnh phẩm được lấy ở 2 vùng nghiên cứu, vào 3 thời điểm: trước nghiên cứu, sau nghiên cứu 7 ngày và sau nghiên cứu 14 ngày.

- Dùng lam kính sạch vô khuẩn áp lên bề mặt vết bỏng nghiên cứu. Cố định lam kính bằng cồn Methanol trong 5 phút. Nhuộm theo phương pháp May Grunwald Giemsa trong 15 phút. Sau đó rửa sạch, để khô.

- Đếm số lượng tế bào viêm dưới kính hiển vi quang học có gắn vimet thị kính với độ phòng đại 10 x 40 lần [127].

Kỹ thuật được tiến hành tại Bộ môn Khoa Giải phẫu bệnh lý, Bệnh viện Quân y 103.

➢ Sinh thiết làm giải phẫu bệnh đối với BN bỏng độ IV:

- Bệnh phẩm được lấy tại vùng rìa (giáp ranh vùng lành và vùng tổn thương), cố định trong formol đệm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20- 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-24 giờ tuỳ theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

- Bệnh phẩm nghiên cứu được xử lý và nhuộm tiêu bản bằng thuốc nhuộm kép Hematoxylin - Eosin tại khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y.

- Đánh giá kết quả: Tiêu bản được đọc dưới kính hiển vi quang học độ phóng đại 20x và 40x theo các chỉ tiêu nghiên cứu sau:

+ Tình trạng phù.

+ Mạch máu, tình trạng tăng sinh mạch máu, phân bố mạch máu.

+ Số lượng các tế bào sợi trong 100 vi trường.

+ Tình trạng mô tái tạo.

** Thời điểm nghiên cứu:*

Các xét nghiệm huyết học, hóa sinh máu, vi sinh vật và mô bệnh học được lấy tại các thời điểm sau:

- Đối với BN bỏng độ III sâu: Lần 1 tiến hành trước khi sử dụng thuốc điều trị bỏng, lần 2 sau đó 7 ngày và lần 3 sau 14 ngày.

- Đối với BN bỏng sâu: Lần 1 tiến hành trước khi sử dụng thuốc điều trị bỏng, lần 2 sau đó 7 ngày hoặc ngày trước thời điểm phẫu thuật cắt hoại tử, ghép da.

Bước đầu đánh giá tác dụng điều trị của gel ceri nitrat trên lâm sàng tại Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác.

2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

- Số liệu sau khi thu thập được tổng hợp và xử lý bằng phần mềm thống kê y học: SPSS 22.0 và Excel 2016.

- So sánh các số trung bình bằng phép kiểm định biến định lượng trên 2 mẫu độc lập (Independent-Sample T Test và Mann-Whitney U), kiểm định biến định lượng trên nhiều mẫu (One-Way Anova và Kruskal-Wallis H), kiểm định biến định lượng trên mẫu ghép cặp, với biến có phân phối chuẩn thì dùng Pair-Sample T Test và biến có phân phối không chuẩn thì dùng Wilcoxon. So sánh tỷ lệ dùng test $\chi 2$. Giá trị khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$.

2.2.8. Đạo đức nghiên cứu

- Nghiên cứu được thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Bệnh viện bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác cho phép thực hiện đề tài nghiên cứu.

- Được sự đồng ý của Bệnh viện bỏng Quốc gia cho phép thực hiện đề tài, thu thấp số liệu trên BN đang điều trị tại bệnh viện.

- Số liệu thu thập trong nghiên cứu này là trung thực, quá trình nghiên cứu không làm ảnh hưởng đến hoạt động khám chữa bệnh tại các khoa lâm sàng có liên quan.

- Thông tin về BN được đảm bảo bí mật. BN không phải chi trả chi phí cho các xét nghiệm và điều trị liên quan đến nghiên cứu. Sự tham gia của BN là hoàn toàn tự nguyện, nên vì một lý do nào đó BN có thể tự rút lui khỏi chương trình nghiên cứu.

- Hồ sơ bệnh án trong quá trình nghiên cứu được lưu trữ, bảo quản cẩn thận, không gây thất lạc.

- Động vật thí nghiệm trong nghiên cứu được sử dụng và xử lý sau thí nghiệm theo đúng quy trình chăm sóc trong điều kiện vệ sinh sạch sẽ, cung cấp nước uống, thức ăn đầy đủ, đảm bảo không gây ô nhiễm cho môi trường xung quanh.

2.2.9. Những hạn chế và khó khăn của nghiên cứu

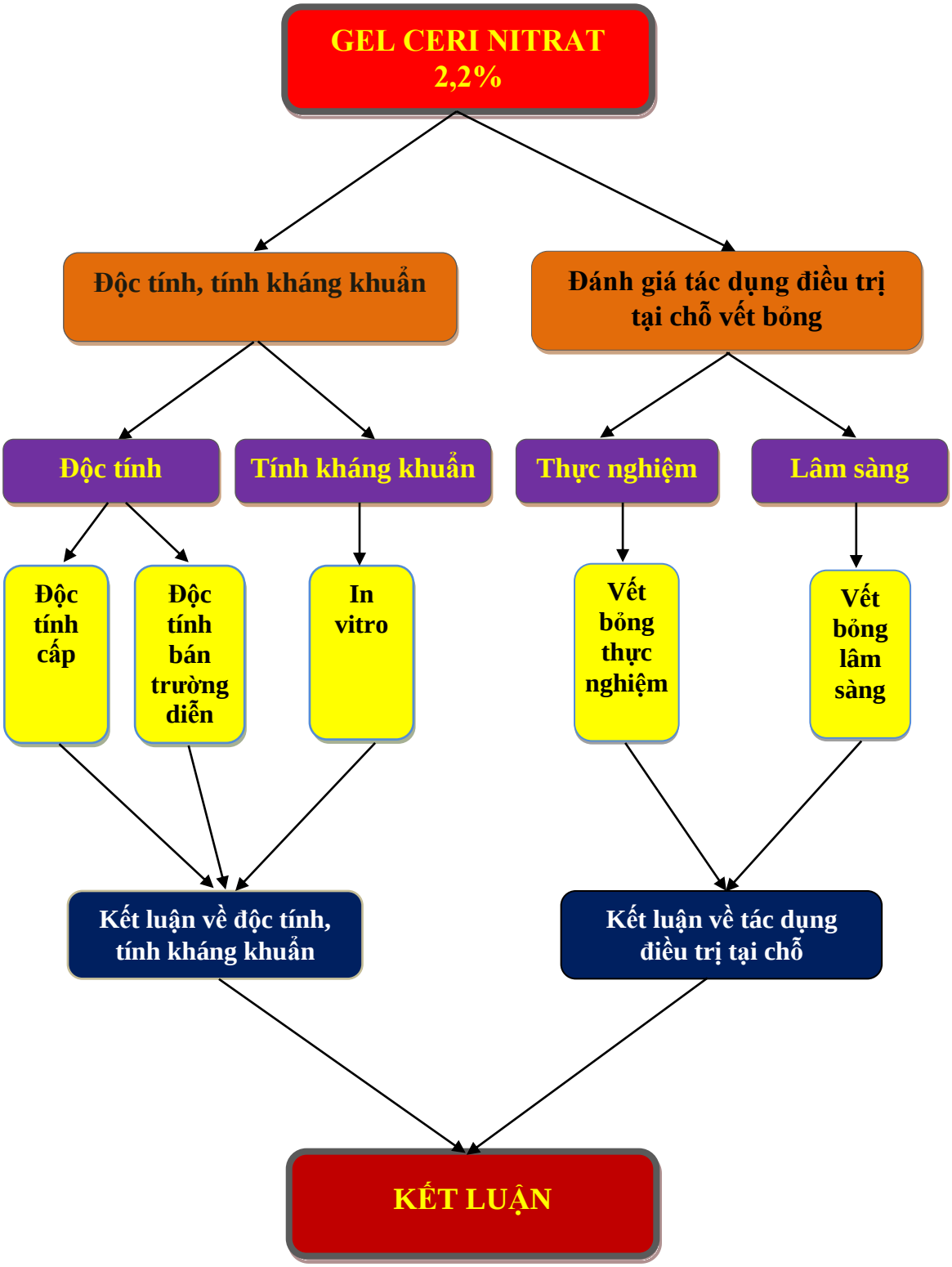
Hạn chế:

- Đề tài mới bước đầu đánh giá tác dụng của ceri nitrat trên người với số lượng mẫu còn hạn chế nên chưa thể đánh giá hết được hiệu quả và tác động của ceri nitrat lên bệnh nhân bỏng.

Khó khăn:

- Đề tài thực hiện với một khối lượng công việc rất lớn, bào gồm hai giai đoạn tiền lâm và lâm sàng, thời gian nghiên cứu dài, nhiều nội dung nghiên cứu phải thực hiện ở nhiều cơ sở khác nhau do vậy việc thu thập số liệu gặp rất nhiều khó khăn.

- Giai đoạn lâm sàng: tổn thương bỏng ở bệnh nhân bỏng thường ít đồng nhất về độ sâu, thường xen kẽ các độ, do vậy việc tuyển chọn đối tượng nghiên cứu gặp nhiều khó khăn, ảnh hưởng đến tiến độ nghiên cứu.



Hình 2.7. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

CHƯƠNG 3
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. ĐỘC TÍNH VÀ HIỆU QUẢ KHÁNG KHUẨN CỦA CERI NITRAT

3.1.1. Độc tính cấp của gel ceri nitrat trên động vật thực nghiệm

3.1.1.1. Kết quả nghiên cứu xác định LD_{50} theo đường uống

Chuột nhắt trắng được chia thành các lô. Từng lô chuột được cho uống gel ceri nitrat với mức liều tăng dần. Theo dõi tình trạng chuột, tỷ lệ sống chết ở mỗi lô trong thời gian 24 giờ sau khi uống thuốc và kéo dài cho đến ngày thứ 14.

Bảng 3.1. Tỷ lệ chuột chết sau 14 ngày uống gel ceri nitrat

STT	Liều sử dụng (g/kg TLCT/24h)	n	Số lượng động vật chết	Số lượng động vật sống
1	2	12	0	12
2	8	12	0	12
3	12	12	0	12
4	16	12	0	12
5	20	12	0	12
6	24	12	0	12
7	28	12	0	12
8	32	12	0	12
9	36	12	0	12
10	40	12	0	12

Liều tối đa chuột có thể uống là 40 g/kg/24h (tương đương với 880 mg ceri nitrat tinh khiết).

Theo dõi 24 giờ và đến 14 ngày sau uống gel ceri nitrat không thấy chuột thí nghiệm nào chết ở tất cả các lô nghiên cứu. Từ kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi kết luận gel ceri nitrat an toàn trên chuột nhắt trắng dù dùng với liều tối đa có thể.

3.1.1.2. Kết quả nghiên cứu xác định một số biểu hiện ngộ độc thuốc

Bảng 3.2. Một số biểu hiện của chuột sau uống gel ceri nitrat

Chỉ số	Thời điểm theo dõi sau khi uống gel ceri nitrat				
	30 phút	1 giờ	4 giờ	24 giờ	14 ngày
Vận động	B. thường	B. thường	B. thường	B. thường	B. thường
Da (tăng tiết mồ hôi, tím tái)	Không	Không	Không	Không	Không
Mắt	B. thường	B. thường	B. thường	B. thường	B. thường
Chảy nước dãi	Không	Không	Không	Không	Không
Co giật, run	Không	Không	Không	Không	Không
Hôn mê	Không	Không	Không	Không	Không
Tiêu chảy	Không	Không	Không	Không	Không
Hành vi bất thường	Không	Không	Không	Không	Không

Theo dõi các biểu hiện tác dụng phụ cấp diễn trong 24 giờ đầu và 14 ngày sau đó, tất cả các nhóm chuột sau uống gel ceri nitrat 2,2% với liều tối đa 40 g/kg/24h không thấy các biểu hiện nhiễm độc như co giật, run, tăng tiết mồ hôi, chảy nước dãi, tiêu chảy, hôn mê ….

**** Kết quả xét nghiệm mô bệnh học:***

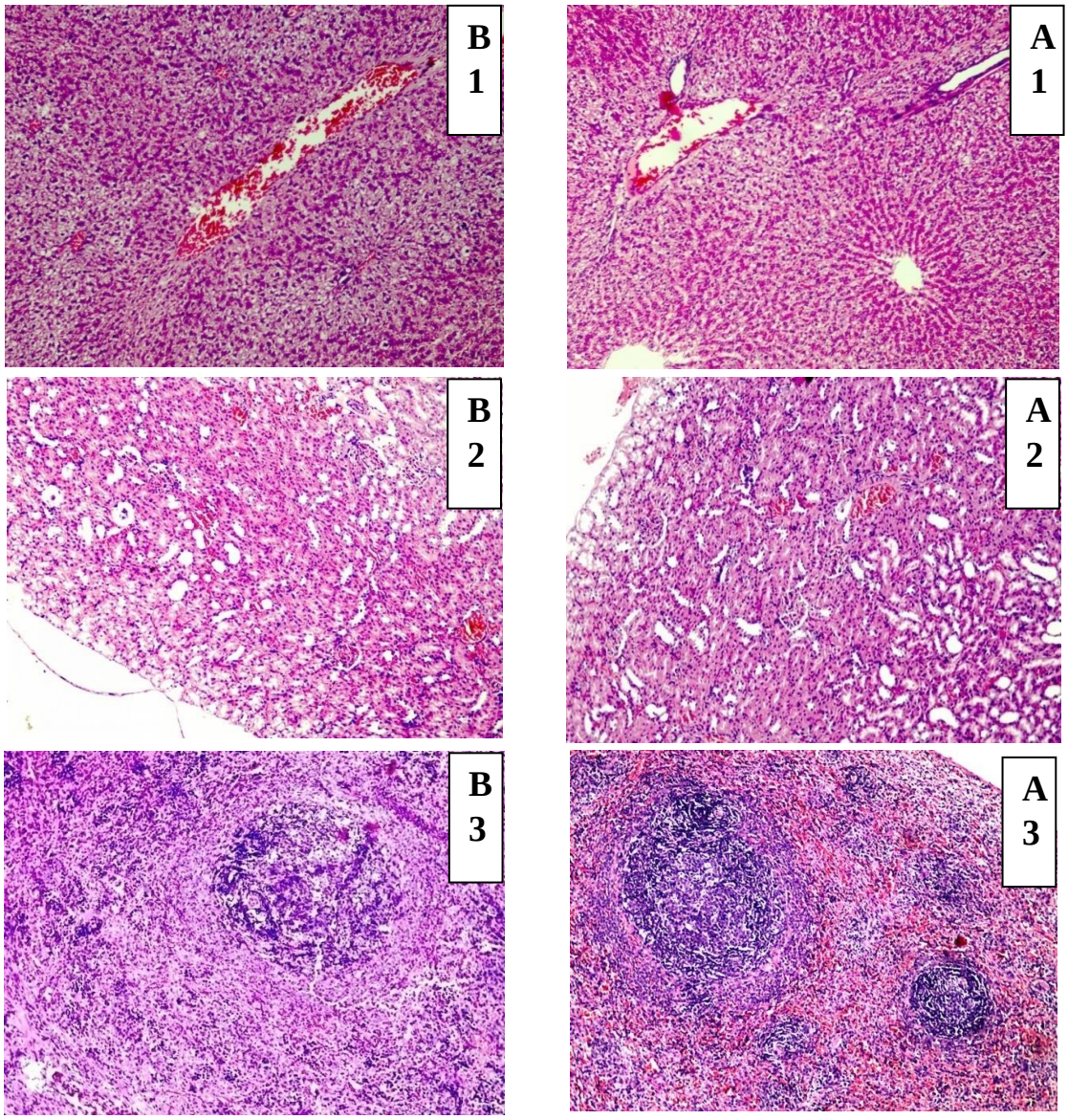
- *Hình ảnh đại thể:* Gan có màu hồng, thận có màu nâu nhạt, lách có màu nâu đậm. Các cơ quan nguyên vẹn, mịn, không bị bầm tím.

- *Hình ảnh vi thể:*

+ Các bè gan và tiểu thùy gan không thay đổi về cấu trúc. Tiểu thùy gan rõ. Tế bào gan bình thường, bào tương thuần nhất, không có tổn thương thoái hóa. Tĩnh mạch trung tâm không giãn, không xung huyết. Khoảng cửa không có xâm nhập viêm.

+ Thận chuột cả lô chứng và lô uống ceri nitrat đều có cấu trúc vùng vỏ và vùng tủy rõ ràng, cầu thận bình thường, các ống thận đều, khoang Bowmann rõ, không thấy các hình ảnh tổn thương trên thận.

+ Không quan sát thấy tổn thương trên lách chuột trong lô chứng và lô uống Ceri nitrat. Cấu trúc mạch máu, cấu trúc xoang đều bình thường, cấu trúc vùng tủy trắng và các nang lympho đều rõ ràng.



Hình 3.1. Hình thái cấu trúc gan, thận và lách chuột sau 14 ngày uống gel ceri nitrat. HE; 100X; *Gan không thay đổi về cấu trúc, tiểu thùy gan rõ, tế bào gan có bào tương thuần nhất và không có tổn thương thoái hóa, tĩnh mạch trung tâm không xung huyết, khoảng cửa không có tế bào viêm (A1). Thận có cấu trúc vùng vỏ và vùng tủy rõ ràng, cầu thận bình thường, các ống thận đều, khoang Bowmann rõ (A2). Lách có mạch máu, cấu trúc xoang bình thường, vùng tủy trắng và các nang lympho đều rõ ràng (A3). Hình thái cấu trúc cả 3 cơ quan không khác biệt với lô chứng (B1,2,3).*

** Nguồn: Tiêu bản số L10-G01-D14; L10-T01-D14; L10-L01-D14*

3.1.2. Độc tính bán trường diễn của gel ceri nitrat trên chuột cống trắng

Trong thời gian thí nghiệm, chuột cống ở cả 2 lô hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 2 lô chuột trong suốt thời gian nghiên cứu.

Bảng 3.3. Biến đổi trọng lượng chuột khi uống gel ceri nitrat

Thời điểm nghiên cứu	Lô chứng (n=10)	Lô uống gel Ceri nitrat (n=10)	p-values
Trước nghiên cứu	109,1± 5,5	112,0± 5,1	>0,05;
Sau 1 tuần	130,8± 5,1	125,9± 5,5	>0,05;
Sau 2 tuần	136,3± 6,7	134,6± 7,5	>0,05;
Sau 3 tuần	142,5± 9,1	138,5± 8,4	>0,05;
Sau 4 tuần	145,9± 11,8	147,4± 8,9	>0,05;

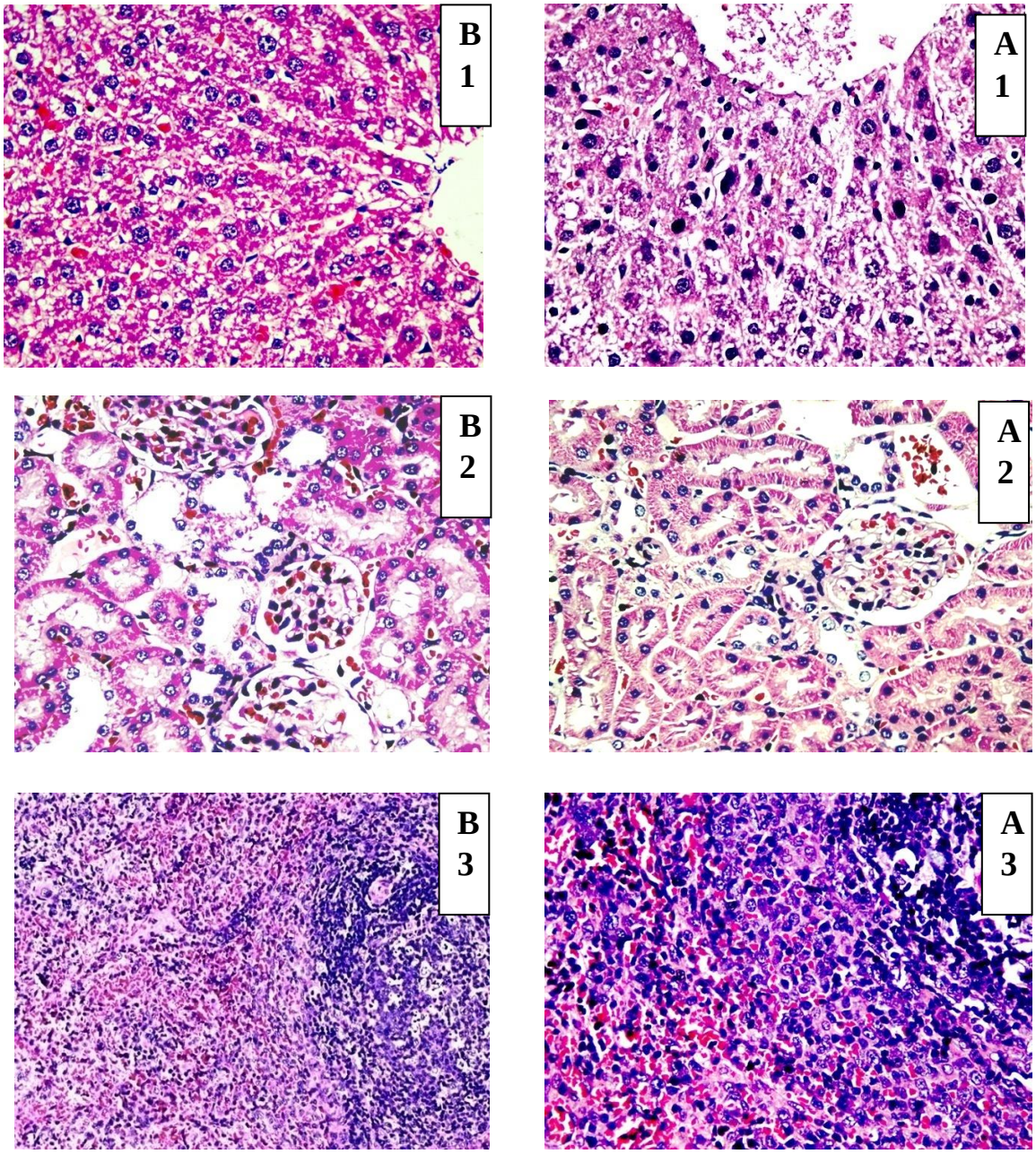
Trong lượng chuột nghiên cứu và lô chứng đều tăng trong 4 tuần theo dõi. Tại các thời điểm nghiên cứu, trọng lượng chuột ở lô chứng lô nghiên cứu đều không có sự khác biệt.

Bảng 3.4. Biến đổi các chỉ số huyết học và hóa sinh máu của chuột

Chỉ số	Lô chứng (n=10)	Lô nghiên cứu (n=10)	p-values
HC (T/l)	8,08 ± 1,02	7,63 ± 1,04	>0,05
BC (G/l)	8,61 ± 2,06	9,66 ± 2,78	>0,05
TC (G/l)	287,6 ± 173,3	257,1±111,2	>0,05
Hematocrit (%)	42,7 ± 4,1	40,6 ± 2,5	>0,05
Hb (g/L)	148,1 ± 22,6	143,0 ± 20,5	>0,05
Creatinin (µmol/l)	56,4 ± 7,1	54,3 ± 7,4	>0,05
Protein (g/l)	63,7 ± 6,1	61,4 ± 8,3	>0,05
SGOT (U/L)	68,7 ± 19,7	75,4 ± 16,2	>0,05
SGPT (U/L)	35,6 ± 12,2	41,1 ± 10,8	>0,05

Sau 28 ngày uống gel ceri nitrat, các chỉ số huyết học và hóa sinh máu không khác biệt so với lô chứng.

Quan sát và so sánh đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần thấy màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở lô uống gel ceri nitrat không khác so với lô chứng uống nước muối sinh lý.



Hình 3.2. Hình thái cấu trúc gan, thận và lách chuột sau 4 tuần uống gel ceri nitrat. HE, (400X); *Không thấy có thay đổi về cấu trúc và tế bào của mô gan, thận và lách (A1, 2, 3), Hình thái cấu trúc cũng không khác với mô gan, thận và lách của chuột lô đối chứng B1, 2, 3)*

** Nguồn: Tiêu bản số CN-G09-D28; CN-T09-D28; CN-L09-D28*

3.1.3. Kết quả nghiên cứu tính kích ứng da của gel ceri nitrat

**** Kết quả test thăm dò:***

Thỏ thử nghiệm đầu tiên, không thấy xuất hiện các vết phù nề và ban đỏ ở vùng da tiếp xúc với gel ceri nitrat 2,2% tại các thời điểm sau khi gỡ tấm gạc 3 phút, 1 giờ, 4 giờ và 14 ngày. Toàn trạng của thỏ không có biểu hiện bất thường: ăn, uống, ngủ và vệ sinh bình thường.

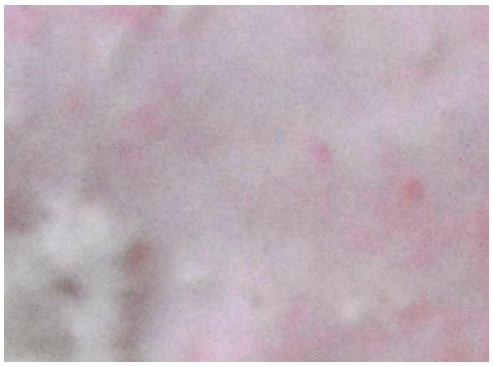
**** Kết quả test xác nhận:***

Bảng 3.5. Tính kích ứng của dung dịch và gel ceri nitrat trên da lành thỏ

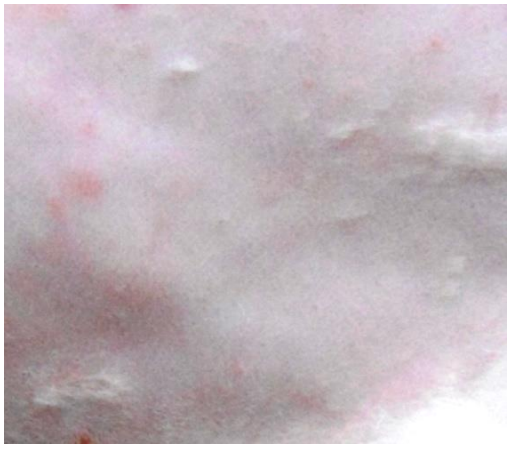
Thời điểm	**Điểm số kích ứng**			
	Thỏ 1	Thỏ 2	Thỏ 3	T. bình
1 giờ	0	0	0	0
24 giờ	0	0	0	0
48 giờ	0	0	0	0
72 giờ	0	0	0	0
Chỉ số kích ứng= 0				

- Nghiên cứu tính kích ứng da lành trên 3 thỏ tiếp theo cho thấy: không có biểu hiện phù nề và ban đỏ trên tất cả các thỏ được thử nghiệm.

- Sau khi gỡ tấm gạc gel ceri nitra tại các thời điểm sau 1 giờ, 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ, thỏ khỏe mạnh, hoạt động bình thường (ăn, uống, ngủ, vệ sinh… bình thường). Tại chỗ da thỏ nghiên cứu không có biểu hiện mẩn ngứa, gãi vào vị trí đặt tấm gạc gel ceri nitrat. Chỉ số kích ứng của gel ceri nitrat bằng 0. Như vậy, gel ceri nitrat 2,2% không gây kích ứng trên da lành thỏ (Hình 3.3).



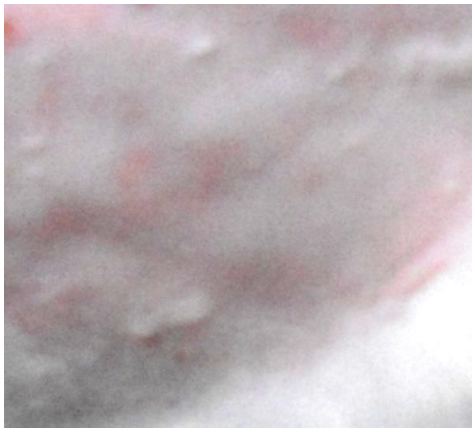
Da thỏ trước khi đắp gel ceri nitrat



Da thỏ vị trí tiếp xúc với gạc gel ceri nitrat sau 1 giờ

Da thỏ vị trí tiếp xúc với gạc gel ceri nitrat sau 24 giờ

Da thỏ vị trí tiếp xúc với gạc gel ceri nitrat sau 48 giờ



Da thỏ vị trí tiếp xúc với gạc gel ceri nitrat sau 72 giờ

Hình 3.3. Da thỏ ở các thời điểm tiếp xúc với gạc gel ceri nitrat

** Nguồn: Thỏ số 03-Test xác nhận*

3.1.4. Khả năng kháng khuẩn một số chủng vi khuẩn kiểm định *in vitro*

3.1.4.1. Phương pháp khuếch tán trên thạch

Bảng 3.6. Kết quả kháng khuẩn gram âm của gel ceri nitrat

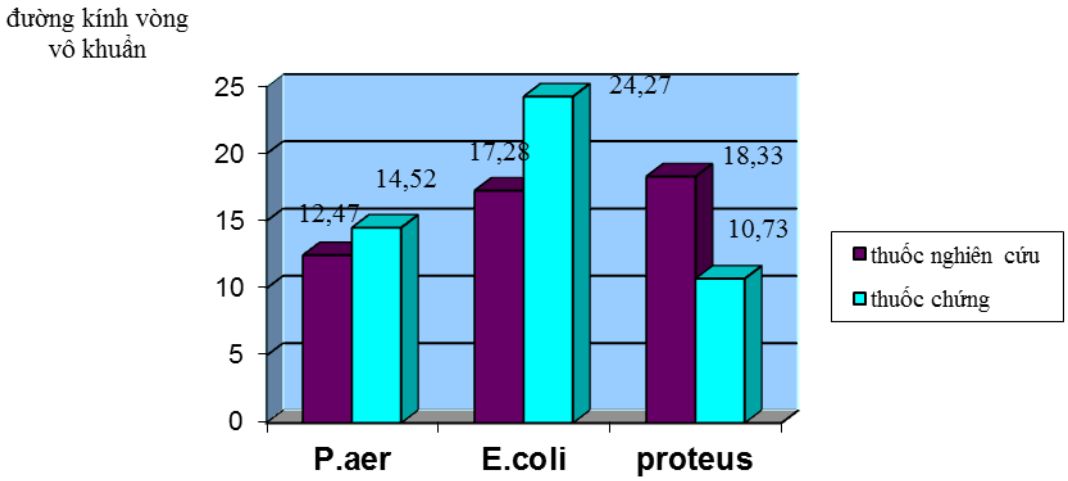
Vi sinh vật kiểm định	Mẫu nghiên cứu		Mẫu chuẩn	
	Đường kính vòng VK	SD	Đường kính vòng VK	SD
E.coli	17,28	0,53	24,27	0,90
Salmonella typhi	17,34	0,53	9,21	0,21
P. aeruginosa	12,47	1,05	14,52	0,41
Proteus mirabilis	18,33	0,47	10,73	0,66
Shigella flexneri	14,34	0,70	24,24	0,26

Các loài VK mà gel ceri nitrat tác dụng mạnh hơn dung dịch kháng sinh streptomycin sulfat: *Sal. typhi (*gần gấp hai lần, p<0,01*), Proteus mirabilis* (gần gấp 2 lần, p<0,01 cũng là loài VK hay gặp ở vết thương bỏng).

Loài VK mà gel ceri nitrat tác dụng yếu hơn dung dịch kháng sinh: *E.coli (p<0,05)* và *Shigella flexneri (p<0,01).*

Với *P.aeruginosa*, gel ceri nitrat có tác dụng tương đương, p>0,05.

Thuốc có tác dụng với 3 loài VK hay gặp ở vết bỏng là *P.aeruginosa, E.coli* và *Proteus mirabilis.*



Hình 3.4. Biểu đồ đường kính vòng vô khuẩn của thuốc với VK gram âm

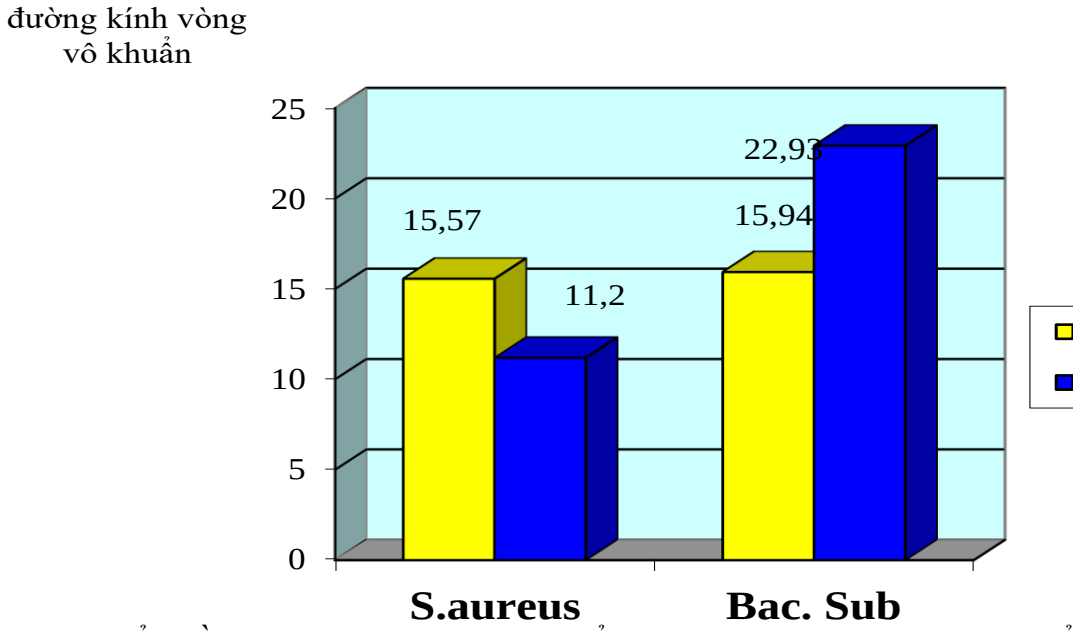
Bảng 3.7. Kết quả kháng khuẩn gram dương của gel ceri nitrat

Vi sinh vật kiểm định	*Mẫu nghiên cứu*		*Mẫu chuẩn*	
	Đường kính vòng VK	***SD***	***Đường kính vòng VK***	***SD***
S. aureus	15,57	0,42	11,20	0,22
Bacillus subtilis	15,94	2,33	22,93	0,09
Bacillus pumilus	20,89	0,58	21,53	0,41
Bacillus cereus	14,19	0,65	17,67	2,05

Đường kính vòng vô khuẩn của 3/4 mẫu nghiên cứu đều có sự khác biệt so với mẫu chứng (trừ mẫu với *Bacillus pumilus* là không khác biệt thống kê, p>0,05).

Loài VK mà gel ceri nitrat tác dụng yếu hơn so với dung dịch kháng sinh: *Bacillus subtilis (p<0,01)* và *Bacillus cereus* (p<0,01).

Loài VK mà gel ceri nitrat tác dụng mạnh hơn so với kháng sinh là *S. aureus*, p<0,05. Đây cũng là loài VK hay gặp ở vết thương bỏng, có sức đề kháng cao với ngoại cảnh và khả năng kháng thuốc mạnh.



Hình 3.5. Biểu đồ đường kính vòng vô khuẩn của gel ceri nitrat với vi khuẩn

3.1.4.2. Kết quả xác định nồng độ tối thiểu ức chế vi khuẩn

Bảng 3.8. Mối liên quan giữa số lượng vi khuẩn và nồng độ thuốc theo thời gian tiếp xúc

Nồng độ		Nồng độ VK/ml sau khi tiếp xúc ở các thời điểm khác nhau								
		E. coli			*S. aureus*			*P. aeruginosa*		
		Sau 2 giờ	Sau 6 giờ	Sau 24 giờ	Sau 2 giờ	Sau 6 giờ	Sau 24 giờ	Sau 2 giờ	Sau 6 giờ	Sau 24 giờ
Gel Ceri nitrat	1/2	0	0	0	0	0	0	10^2	0	0
	1/4	0	0	0	0	0	0	10^2	0	0
	1/8	10^3	0	0	0	0	0	10^3	0	0
	1/16	10^4	10^2	0	0	0	0	10^3	0	0
	1/32	10^5	10^3	0	10^4	0	0	10^4	0	0
	1/64	10^6	10^4	0	10^6	10^4	0	10^5	10^3	0
	1/128	10^7	10^5	10^4	10^7	10^6	10^4	10^6	10^4	10^2

Gel ceri nitrat ở độ pha loãng tới 1/16 có tác dụng làm giảm số lượng VK sau 2 giờ tiếp xúc. Ở nồng độ pha loãng 1/64, thuốc sau 24 giờ mới có tác dụng diệt khuẩn hoàn toàn. Ở nồng độ pha loãng 1/128 đến 24 giờ chỉ có tác dụng làm giảm số lượng. Sau 2 giờ tiếp xúc, gel Ceri nitrat ở độ pha loãng 1/4 đã có hiệu lực diệt khuẩn hoàn toàn với *E. coli* và *S. aureus*. Với *P. aeruginosa*, hiệu lực diệt khuẩn hoàn toàn không xuất hiện ở sau 2 giờ tiếp xúc nhưng để tiếp xúc sau 6 giờ thì nồng độ 1/32 vẫn có tác dụng diệt khuẩn hoàn toàn.

Hình ảnh minh họa tại Phụ lục 1 kèm theo

3.2. TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ VẾT BỎNG CỦA GEL CERI NITRAT

3.2.1. Tác dụng điều trị vết thương bỏng trên chuột thực nghiệm

3.2.1.1. Diễn biến toàn thân

Chuột không có biểu hiện mẩn ngứa, dị ứng. Sau gây bỏng 1 giờ, chuột tỉnh táo hoàn toàn. Trong ngày đầu gây bỏng: chuột mệt, ít đi lại, ăn uống hoạt động kém hơn nhiều. Tình trạng trên giảm dần đến ngày thứ 5, thứ 6 ăn uống đi lại hoạt động bình thường, lông mượt, hậu môn khô, phân thành khuôn, mắt trong. Không có biểu hiện hiện bất thường khác.

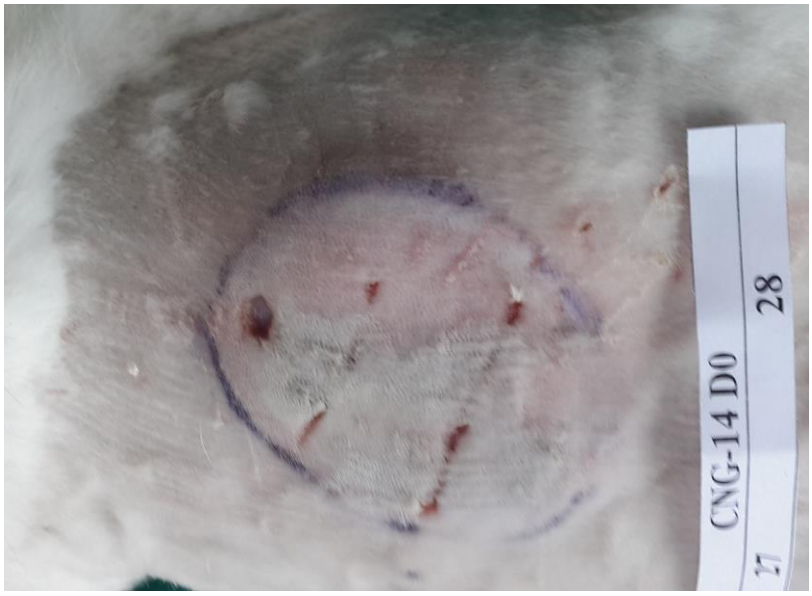
Bảng 3.9. Thay đổi cân nặng (g) của chuột trong quá trình nghiên cứu

Ngày	Nhóm NaCl 0,9% (n= 10)	Nhóm SSD (n= 10)	Nhóm ceri nitrat (n= 15)
D0	142,5 ± 6,82	160,1 ± 11,53	181,6 ± 18,97
D5	131,84 ± 6,51	151,51 ± 10,26	169,14 ± 18,38
D10	125,02 ± 6,71	134,53 ± 9,08	148,35 ± 17,01
D15	141,7 ± 6,82	159,36 ± 11,4	182,24 ± 18,86
D20	141,61 ± 7,08	159,74 ± 11,46	181,34 ± 18,92

Trọng lượng chuột giảm dần tới ngày thứ 10 (cũng là ngày thấp nhất), sau đó, trọng lượng chuột phục hồi dần, tới ngày 20 sau nghiên cứu gần như bình thường. Không có sự khác biệt giữa ba nhóm.

3.2.1.2. Diễn biến vết thương bỏng thực nghiệm

Ngay sau khi gây bỏng (D0), vùng bỏng có màu trắng ngà, ranh giới rõ với da lành. Sau một ngày gây bỏng (D1): Vết bỏng chuyển màu trắng đục, hoại tử, phù nề, xuất tiết, viêm, ranh giới rõ.



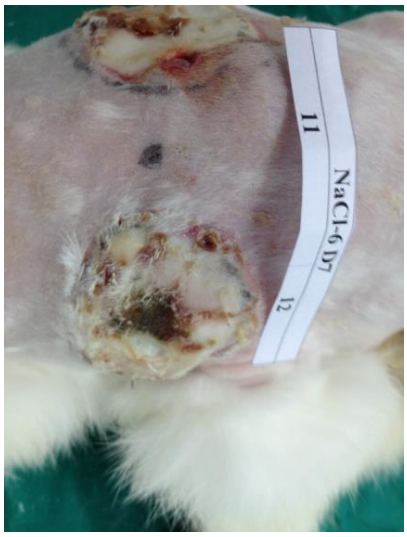
Hình 3.6. Hình ảnh tổn thương sau gây bỏng

** Nguồn: Chuột số 14*

Bảng 3.10. Diễn biến tại chỗ vết thương bỏng thực nghiệm

Thời gian	**Nhóm NaCl 0,9% (n= 20)**	**Nhóm SSD (n= 20)**	**Nhóm ceri nitrat (n= 30)**
D1	Tổn thương bỏng màu trắng đục, hoại tử, phù nề, xuất tiết, viêm, ranh giới rõ	Tổn thương bỏng màu trắng đục, hoại tử, phù nề, xuất tiết, viêm, ranh giới rõ	Tổn thương bỏng màu trắng đục, hoại tử, phù nề, xuất tiết, viêm, ranh giới rõ
D7	Tổn thương bỏng viêm nề mạnh, tấy đỏ rõ rệt. Chỉ có 4/20 vết bỏng có hoại tử khô, còn lại là hoại tử ướt. Dịch mủ nhiều, bờ vết bỏng gồ ghề. Ranh giới giữa vết bỏng và mô lành rõ.	Vết bỏng viêm nề, mủ và dịch xuất tiết nhiều. Ranh giới giữa vết bỏng và mô lành rõ. Hoại tử ướt rõ, gồ ghề, xen lẫn với vùng chuyển hoại tử khô, đang rụng từ bở mép. Biểu mô bờ mép vết thương có (khoảng 0,3- 0,5cm).	Vết bỏng khô hơn, viêm nề giảm. Có 10/30 vết bỏng hoại tử ướt, viêm nề và dịch mủ vừa. Có 20/30 vết bỏng tiến triển tương tự như mới gây bỏng, viêm nề ít, dịch mủ ít, sạch. Đường ranh giới khá rõ giữa vết bỏng và mô lành, biểu mô bờ mép khoảng 0,3-0,5 cm.

Thời gian	Nhóm NaCl 0,9% (n= 20)	Nhóm SSD (n= 20)	Nhóm ceri nitrat (n= 30)
D14	Vết thương dịch mủ, xuất tiết còn. Hoại tử chuyển ướt và khô xen lẫn. Một số đã rụng hoại tử. Viêm nề, tấy đỏ nặng, hoại tử ướt là chủ yếu, tiết dịch, một số vết có loét, viêm mủ và xen kẽ vùng khô, tình trạng nhiễm khuẩn nhiều. Diện tích vết bỏng thu hẹp, biểu mô hóa bờ mép chưa đáng kể.	Vết bỏng đang viêm mủ và rụng hoại tử. Viêm nề, tấy đỏ giảm nhiều so với nhóm ĐT bằng NaCl 0,9%. Còn dịch mủ, bề mặt vết bỏng khá phẳng, xen kẽ một số vùng khô sạch. Hoại tử xen lẫn khô và ướt, phần hoại tử rụng để lộ mô hạt. Ranh giới giữa vết bỏng và mô lành rõ. Diện tích vết bỏng thu hẹp.	Tổn thương khô, viêm giảm nhiều. Vết bỏng còn dịch mủ, xuất tiết nhưng giảm rõ rệt so với nhóm ĐT bằng NaCl 0,9%. Hoại tử khô dần. Giữa vết bỏng và mô lành có đường ranh giới rõ. Diện tích bỏng thu hẹp đáng kể, biểu mô hóa xung quanh 0,5-1 cm.
D21	Vết bỏng đỡ viêm nề, xen kẽ vùng khô. Một số còn hoại tử chảy mủ, dịch trên vết bỏng.	Vết bỏng khô và khá sạch. Xung quanh đóng vảy bong từ rìa vào trung tâm, để lại nền phẳng màu hồng, mô hạt đẹp còn xen lẫn giả mạc.	Vết bỏng sạch, giảm viêm nề rõ. Một số vết bỏng xung quanh vảy cong lên bong từ rìa vào, nền phía dưới vảy màu hồng. Mô hạt đẹp.
D22-32	Diện tích bỏng thu hẹp hơn, còn 9/20 vết bỏng còn mủ, chảy dịch viêm. Biểu mô hóa chậm. Tới ngày 32: khỏi tất cả vết thương	Diện tích bỏng thu hẹp, 7/20 vết khỏi, 10/20 vết liền chưa hoàn toàn. Còn 3/20 vết còn ướt có dịch, diện bỏng thu hẹp rõ rệt. Tới ngày 30: khỏi tất cả vết thương	Diện tích bỏng thu hẹp rõ, còn 2/30 vết bỏng còn viêm, có ít dịch. Tới ngày 29: khỏi tất cả vết thương



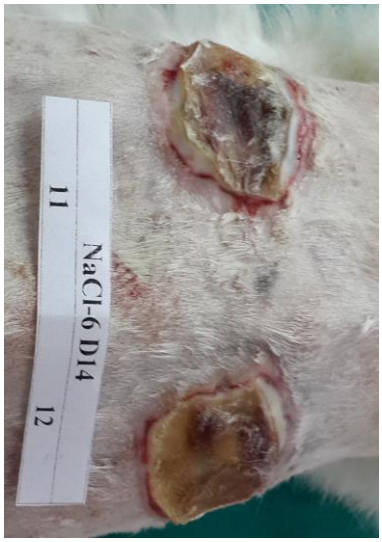
Tổn thương ngày 7, dịch mủ nhiều, hoại tử ướt (nhóm NaCl 0.9%)

Tổn thương ngày thứ 7, hoại tử ướt, viêm mạnh, dịch mủ nhiều (nhóm SSD)

Tổn thương ngày thứ 7. VT ít dịch mủ, viêm nhẹ (nhóm ceri nitrat)

Hình 3.7. Hình ảnh tổn thương sau 7 ngày điều

** Nguồn: Chuột số NaCl-6-D7; SSD-9-D7; CNG-13-D7*



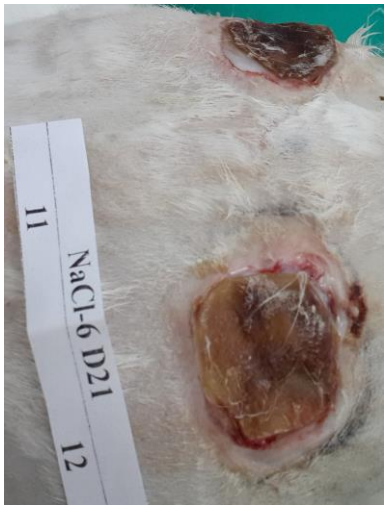
Tổn thương ngày 14, dịch mủ ít, hoại tử ướt khô xen kẽ (nhóm NaCl 0.9%)

Tổn thương ngày thứ 14, hoại tử đang rụng, viêm nhẹ, dịch mủ ít (nhóm SSD)

Tổn thương ngày thứ 14, hoại tử khô, viêm nhẹ, dịch mủ ít (nhóm ceri nitrat)

Hình 3.8. Hình ảnh tổn thương sau 14 ngày điều trị

** Nguồn: Chuột số NaCl-6-D14; SSD-9-D14; CNG-14-D14*



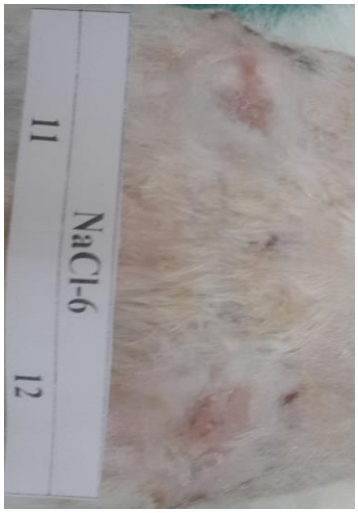
Tổn thương ngày 21, viêm nhẹ, hoại tử ướt khô xen kẽ (nhóm NaCl 0.9%)

Tổn thương ngày thứ 21, vết bỏng khô, sạch, biểu mô hóa bờ mép (nhóm SSD)

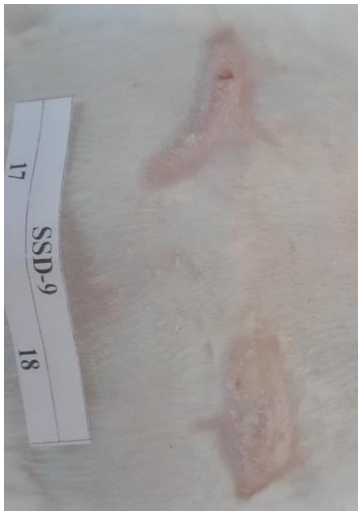
Tổn thương ngày thứ 21, vết bỏng khô, sạch, biểu mô hóa bờ mép (nhóm ceri nitrat)

Hình 3.9. Hình ảnh tổn thương sau 21 ngày điều trị

** Nguồn: Chuột số NaCl-6-D21; SSD-9-D21; CNG-14-D21*



Tổn thương sau khi điều trị khỏi (nhóm NaCl 0.9%)



Tổn thương sau khi điều trị khỏi (nhóm SSD)

Tổn thương sau khi điều trị khỏi (nhóm ceri nitrat)

Hình 3.10. Hình ảnh tổn thương bỏng sau khi điều trị khỏi

** Nguồn: Chuột số NaCl-6; SSD-9; CNG-14*

Bảng 3.11. Biến đổi kích thước vết bỏng theo thời gian điều trị

Thời gian (ngày)	**Diện tích vết bỏng (mm^2)**			**p-values**
	Nhóm NaCl (n= 20)[1]	**Nhóm SSD (n= 20)[2]**	**Nhóm ceri nitrat (n= 30)[3]**	
D 1	249,84 ± 45,14	289,09 ± 41,48	321,57 ± 62,44	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,05$
D 7	212,1 ± 36,8	245,99 ± 44,03	247,96 ± 44,59	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} > 0,05$
D 14	168,41 ± 37,51	152,55 ± 33,01	176,40 ± 38,99	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
D 21	106,27 ± 30,13	48,95 ± 13,07	46,89 ± 17,14	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$
Tốc độ liền vết thương (mm^2/ngày)	6,83 ± 1,56	11,43 ± 1,84	13,07 ± 3,12	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,05$

Theo thời gian, kích thước vết thương bỏng nhỏ dần (p<0,001). Ở ngày thứ 21, diện tích vết thương bỏng ở nhóm điều trị ceri nitrat và SSD đều nhỏ hơn nhóm điều trị NaCl 0,9%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,001.

Tốc độ liền vết thương bỏng ở nhóm điều trị ceri nitrat là 13,07 ± 3,12 mm^2/ngày, nhanh hơn so với nhóm điều trị SSD (11,43 ± 1,84 mm^2/ngày) và nhóm điều trị NaCl 0,9% (6,83 ± 1,56 mm^2/ngày), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,05- 0,001.

Bảng 3.12. Thời gian liền vết thương bỏng thực nghiệm

Chỉ số nghiên cứu	Nhóm NaCl (n= 20)[1]	Nhóm SSD (n= 20)[2]	Nhóm ceri nitrat (n= 30)[3]	p-values
Thời gian biểu mô hóa 50%	19,10± 0,85	15,35± 2,25	15,53± 1,65	$p_{1-2}<0,001$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}>0,05$
Thời gian khỏi hoàn toàn	29,26 ± 1,0	25,85± 1,1	24,80± 1,29	$p_{1-2}<0,001$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,01$

Thời gian biểu mô hóa 50% ở nhóm điều trị ceri nitrat là 15,53 ± 1,65 ngày, tương đương với nhóm SSD (15,35 ± 2,25 ngày), và ngắn hơn so với nhóm điều trị NaCl 0,9% (19,10 ± 0,85 ngày), sự khác biệt có ý nghĩa với p<0,001.

Thời gian khỏi hoàn toàn ở nhóm điều trị ceri nitrat (24,80 ± 1,29 ngày) ít hơn so với nhóm SSD (25,85 ± 1,1 ngày) và nhóm điều trị NaCl 0,9% (29,26 ± 1,0 ngày), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,01- 0,001.

3.2.1.3. Vi khuẩn tại vết thương bỏng thực nghiệm

Bảng 3.13. Tỷ lệ % cấy khuẩn dương tính ở vết thương bỏng

Thời gian	Tỷ lệ % cấy khuẩn dương tính			p
	Nhóm NaCl 0,9% (n= 20)[1]	Nhóm SSD (n= 20)[2]	Nhóm ceri nitrat (n= 30)[3]	
D3	90	70	60	$p_{1-2}>0,05$ $p_{3-2}<0,05$
D7	95	80	50	$p_{1-2}>0,05$ $p_{3-2}<0,05$
D14	55	45	13,3	$p_{1-2}>0,05$ $p_{3-2}<0,05$

Ngày thứ 7 và 14, tỷ lệ vết thương bỏng mọc VK ở nhóm điều trị ceri nitrat là 50,0% và 13,3%, thấp hơn so với nhóm SSD (80,0% và 45%) và nhóm NaCl 0,9% (95,0% và 55,0%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,05.

Bảng 3.14. Tỷ lệ % chủng loại vi khuẩn vết thương bỏng

Thời gian	**Vi khuẩn**	**Tỷ lệ %**			**Tổng**
		Nhóm NaCl (n= 20)[1]	**Nhóm SSD (n= 20)[2]**	**Nhóm ceri nitrat (n= 30)[3]**	
D3	*Enterobacter*	3 (15,0)	3 (15,0)	2 (6,7)	8 (11,4)
	P. aeruginosa	7 (35,0)	7 (35,0)	12 (40,0)	26 (37,1)
	S. aureus	8 (40,0)	4 (20,0)	4 (13,3)	16 (22,9)
D7	*Enterobacter*	3 (15,0)	3 (15,0)	1 (3,3)	7 (10,0)
	P. aeruginosa	8 (40,0)	8 (40,0)	10 (33,3)	26 (37,1)
	S. aureus	8 (40,0)	5 (25,0)	4 (13,3)	17 (24,3)
D14	*P. aeruginosa*	7 (35,0)	5 (25,0)	3 (10,0)	15 (21,4)
	S. aureus	4 (20,0)	4 (20,0)	1 (3,3)	9 (12,9)

Trong cả 3 nhóm, *P. Aeruginosa* có số lần mọc nhiều nhất (37,1%), tiếp đến là vi khuẩn *S. Aureus (22,9%)* và cuối cùng là *Enterobacter* (11,4%).

Ngày thứ 14, vết bỏng không còn *Enterobacter* , số vết thương mọc các loại vi khuẩn ở nhóm điều trị bằng ceri nitrat thấp hơn so với các nhóm chứng.

Bảng 3.15. Mật độ vi khuẩn bề mặt vết thương cấy khuẩn dương tính

Thời gian	**Số lượng vi khuẩn (x 10^3)/cm^2**			**p-values**
	Nhóm NaCl 0,9%[1]	**Nhóm SSD[2]**	**Nhóm ceri nitrat[3]**	
Ngày 3	n= 18	n= 14	n= 18	p_{1-2}<0,001
	446,94±67,195	277,50±44,191	218,06±92,10	p_{1-3}<0,001 p_{2-3}<0,05
Ngày 7	n= 19	n= 16	n= 15	p_{1-2}<0,001
	157,63±59,02	92,19±20,08	89,67±22,63	p_{1-3}<0,001 p_{2-3}>0,05
Ngày 14	n= 11	n= 9	n= 4	p_{1-2}<0,001
	88,64±17,33	71,67±15,81	35,00±8,16	p_{1-3}<0,001 p_{2-3}<0,001
p-values	<0,001	<0,001	<0,001	

Theo thời gian điều trị, mật độ vi khuẩn ở các vết thương bỏng giảm dần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,001.

Ngày thứ 7, mật độ VK ở nhóm điều trị ceri nitrat tương đương nhóm SSD và ít hơn so với nhóm chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,001.

Ngày thứ 14, mật độ VK ở nhóm điều trị ceri nitrat ít hơn so với nhóm điều trị SSD và nhóm chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,001.

3.2.1.4. Thay đổi chỉ số huyết học, hóa sinh trên chuột thực nghiệm

Bảng 3.16. Thay đổi một số chỉ số huyết học của chuột thực nghiệm

Chỉ số	Thời gian	Nhóm NaCl 0,9% (n=10)[1]	Nhóm SSD (n= 10)[2]	Nhóm ceri nitrat (n=15)[3]
Hồng cầu (T/l)	D 0 (a)	7,90 ± 0,36	7,36 ± 1,03	7,79 ± 0,53
	D 7 (b)	7,09 ± 0,30	7,33 ± 0,65	6,76 ± 1,58
	D 21 (c)	6,82 ± 0,9	7,87 ± 0,60	7,48 ± 0,56
	p	p_{a-b}<0,001; p_{a-c}<0,01;	p_{a-b}>0,05; p_{a-c}>0,05;	p_{a-b}<0,05; p_{a-c}<0,01;
Bạch cầu (G/l)	D 0 (a)	8,00 ± 1,76	8,87 ± 2,13	9,79 ± 2,11
	D 7 (b)	8,81 ± 3,6	14,67 ± 6,17	12,82 ± 4,1
	D 21 (c)	7,76 ± 4,64	12,11 ± 4,07	9,82 ± 2,9
	p	p_{a-b}>0,05; p_{a-c}>0,05;	p_{a-b}<0,05; p_{a-c}<0,05;	p_{a-b}<0,05; p_{a-c}>0,05
Tiểu cầu (G/l)	D 0 (a)	577,80 ± 142,01	495,50 ± 154,17	653,00 ± 130,94
	D 7 (b)	692,70 ± 136,47	799,10 ± 232,23	695,26 ± 209
	D 21 (c)	780,90 ± 286,21	739,40 ± 225,72	788,20 ± 117,81
	p	p_{a-b}>0,05; p_{a-c}>0,05;	p_{a-b}<0,05; p_{a-c}<0,05;	p_{a-b}>0,05; p_{a-c}<0,05;

Số lượng hồng cầu nhóm ceri nitrat ở ngày thứ 7 giảm hơn so với ngày gây bỏng, và phục hồi ở ngày thứ 21 (p<0,05- 0,001).

Số lượng bạch cầu ở nhóm điều trị ceri nitrat cao ở ngày thứ 7 tương đương với nhóm SSD và có giá trị bình thường ở ngày thứ 21 (p>0,05).

Số lượng tiểu cầu của nhóm điều trị ceri nitrat tăng cao ở thời điểm gây bỏng. Nhưng ở ngày thứ 7 và 21, SLTC giữa các nhóm không có khác biệt (p>0,05).

Bảng 3.17 Sự thay đổi một số chỉ chỉ tiêu sinh hóa chuột

Chỉ số	Thời gian	Nhóm NaCl (n=10)[1]	Nhóm SSD (n= 10)[2]	Nhóm ceri nitrat (n= 15)[3]
GOT (UI)	D 0	179,82 ± 21,64	181,39 ± 33,05	193,03 ± 40,3
	D 7	527,76 ± 81,98	161,98 ± 73,51	243,00 ± 114,57
	D 21	190,56 ± 44,03	146,85 ± 44,48	218,60 ± 97,13
GPT (UI)	D 0	73,68 ± 13,83	68,56 ± 11,06	82,88 ± 57,73
	D 7	87,15 ± 83,16	50,73 ± 18,9047	52,14 ± 11,12
	D 21	73,22 ± 35,86	48,00 ± 7,87	64,52 ± 13,58
Ure (mmol/l)	D 0	7,03 ± 1,33	6,50 ± 1,43	5,93 ± 1,1
	D 7	5,49 ± 0,95	7,21 ± 1,74	6,74 ± 0,93
	D 21	8,88 ± 1,78	7,02 ± 1,1	8,66 ± 1,93
Creatinin (µmol/l)	D 0	78,45 ± 6,28	78,50 ± 10,14	76,12 ± 9,96
	D 7	59,36 ± 6,15	65,30 ± 8,81	61,33 ± 5,91
	D 21	62,92 ± 10,01	68,04 ± 4,48	67,92 ± 6,40
Protein (g/l)	D 0	103,1 ± 5,5	106 ± 3,7	105,20 ± 7,64
	D 7	73,1 ± 5,4	66,5 ± 7,44	77,13 ± 6,75
	D 21	82,9 ± 4,3	88 ± 11,86	88,73 ± 10,76
Albumin (g/l)	D 0	23,36 ± 1,34	23,362 ± 1,83	23,18 ± 1,20
	D 7	20,42 ± 2,08	18,65 ± 0,84	19,94 ± 1,58
	D 21	22,34 ± 1,59	18,2 ± 3,09	21,04 ± 2,34
Glucose (mmol/l)	D 0	6,93 ± 1,17	6,3 ± 0,85	6,65 ± 1,1
	D 7	6,03 ± 1,77	8,49 ± 0,83	7,35 ± 0,67
	D 21	7,61 ± 2,89	6,39 ± 2,63	9,28 ± 1,9

Tại các thời điểm nghiên cứu, các chỉ số sinh hóa chuột đều trong giới hạn bình thường.

3.2.1.5. Kết quả nghiên cứu mô bệnh học trên vết bỏng thực nghiệm

- Tổn thương vi thể ngày thứ nhất:

Hình ảnh mất toàn bộ lớp biểu bì, tế bào hoại tử, teo đét, bong tróc, xuất huyết. Chân bì: Tế bào phù nề, dãn rộng, mạch máu xung huyết, xuất huyết, xâm nhập nhiều bạch cầu N.

- Tổn thương vi thể ngày thứ 3:

Tổn thương tương tự ở 3 nhóm. Hình ảnh biểu bì vùng rìa teo đét, hoại tử, vùng trung tâm tổn thương bong để lộ chân bì phù nề, mạch máu dãn rộng, xung huyết, xuất huyết. Tế bào sợi vùng rìa tổn thương tăng sinh, rải rác xuất hiện tế bào phân chia. Thâm nhiễm nhiều tế bào viêm, chủ yếu là bạch cầu N, rải rác lympho và đại thực bào... .

- Tổn thương vi thể ngày thứ 7:

Nhóm điều trị bằng ceri nitrat và SSD: Vùng trung tâm vết bong biểu mô chưa liền, tế bào biểu mô phát triển từ bờ tổn thương. Vẫn còn phù nề, sung huyết mạch máu mạnh, xâm nhập nhiều tế bào viêm chủ yếu là tế bào bạch cầu hạt trung tính. Tăng sinh các sợi tạo keo và tế bào sợi chiếm ưu thế cao hơn nhóm dùng nước muối sinh lý 0,9%.

- Tổn thương vi thể ngày thứ 14:

Nhóm điều trị bằng nước muối sinh lý 0,9%: phù nề, xung huyết giảm nhưng vẫn còn hình ảnh bong biểu mô vùng trung tâm, chân bì phù nề sung huyết mạnh, xâm nhập nhiều tế bào viêm, mô tái tạo cấu trúc không đều. Ở nhóm điều ceri nitrat và SSD: Tế bào viêm giảm rõ, tăng sinh sợi tạo keo, tế bào sợi tăng sinh, cấu trúc đều đặn, mạch máu còn sung huyết.

3.2.1.6. Kết quả nghiên cứu giải phẫu bệnh gan, thận và lách sau khi kết thúc nghiên cứu: Hình ảnh cấu trúc bình thường.

- Mô gan: Các bè gan sắp xếp thành dải, cấu trúc rõ, các tế bào gan và tế bào nội mô lót lòng các xoang tĩnh mạch có cấu trúc bình thường; cấu trúc khoảng cửa bình thường.

- Nhu mô thận: Cuộn mạch của các tiểu cầu thận có cấu trúc bình thường, các tế bào nội mô của cuộn mạch nhỏ và đều nhau. Khoang Bowman rõ. Các tế bào ống thận đều nhau, rõ cấu trúc, các tế bào biểu mô ống thận bình thường. Khe thận hẹp. Mao mạch máu thành mỏng, tế bào nội mô rõ.

- Nhu mô lách: mầu sắc, cấu trúc vùng tủy, mạch máu, xoang lách đều bình thường. Không các hình ảnh tổn thương cấu trúc lách.

3.2.2. Tác dụng điều trị vết thương bỏng trên lâm sàng

Bảng 3.18. Một số đặc điểm nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Đặc điểm		**Nhóm bỏng độ III sâu (n= 21)**	**Nhóm bỏng sâu (n= 20)**
Tuổi	18- 60	20 (95,2%)	19 (95,0%)
	>60	1 (4,8%)	1 (5,0%)
	$\overline{X}$ ± SD	40,48 ± 12,09	41,2 ± 12,61
Giới	Nam	14 (66,7%)	13 (65,0%)
	Nữ	7 (33,3%)	7 (35,0%)
Nguyên nhân	Nhiệt khô	12 (57,1%)	13 (65,0%)
	Nhiệt ướt	6 (28,6%)	4 (20,0%)
	Tia lửa điện	3 (14,3%)	3 (15,0%)
Vị trí	Thân mình	3 (14,2%)	1 (5%)
	Chi trên	9 (42,9%)	5 (25%)
	Chi dưới	9 (42,9%)	14 (70%)
Thời gian bắt đầu nghiên cứu		1,13 ± 0,42 ngày	2,03 ± 0,97 ngày
Diện tích bỏng chung		14,7 ± 7,55%	15,1 ± 7,56%

- Hầu hết BN ở lứa tuổi 16- 60 tuổi. Đa số BN bỏng là nam giới. Tác nhân gây bỏng: chủ yếu là nhiệt khô, tiếp đến là nhiệt ướt và cuối cùng là tia lửa điện. Đa số là bị bỏng ở chi trên và chi dưới.

- Ngày đắp thuốc sau bỏng: dao động 1,13 ± 0,42 ngày ở BN bỏng độ III sâu và 2,03 ± 0,97 ngày ở BN bỏng sâu.

**** Tình trạng toàn thân:***

Theo dõi diễn biến toàn thân BN trong quá trình điều trị thấy:

- Không gặp BN có rối loạn bệnh lý toàn thân liên quan tới sử dụng thuốc. Các cơ quan như tuần hoàn, hô hấp, tiêu hóa, tiết niệu bình thường. Không có biến chứng nhiễm khuẩn tại chỗ và toàn thân.

- Không có trường hợp nào có biểu hiện dị ứng tại chỗ, toàn thân.

3.2.2.1. Tác dụng của gel ceri nitrat điều trị vết thương bỏng độ III sâu trên người

a) Diễn biến vết thương bỏng độ III sâu đắp gel ceri nitrat

Trước khi đắp thuốc, tổn thương hai vùng có hoại tử ướt, màu trắng xám, gồ cao, viêm nề xung huyết mạnh, dịch nhiều, lẫn dị vật.

Bảng 3.19. Diễn biến tại chỗ vết thương bỏng độ III sâu

Triệu chứng	Vùng A (Ceri nitrat) (n= 21)	Vùng B (SSD) (n= 21)
Cảm giác đau, rát tại chỗ sau đắp thuốc nghiên cứu	Đắp lần đầu BN có cảm giác đau nhẹ, nóng rát nhẹ kéo dài khoảng 1-3 phút. Lần thay băng thứ 2 không đau, chỉ còn cảm giác nóng rát nhẹ. Những lần sau không đau.	Không có cảm giác đau, nóng rát sau đắp thuốc
Tình trạng viêm nề viền mép và da lành	Viêm nề giảm từ ngày thứ 2, hết ở ngày thứ 4-6. Không gặp viêm nề VT lan da lành	Thời gian viêm tương tự. Mức độ viêm nề rõ hợp vùng A Không gặp viêm nề lan da lành.
Tình trạng dịch xuất tiết, dịch mủ	Dịch xuất tiết, dịch mủ ít hơn so với vùng B, giảm dần từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 4-6.	Dịch xuất tiết, dịch mủ, giả mạc nhiều hơn so với vùng A, giảm dần từ ngày thứ 2-6.
Tình trạng biểu mô hóa	Khi hoại tử rụng, lộ nền biểu mô hóa sạch từ đáy vết thương kết hợp với mô hạt.	Khi hoại tử rụng, lộ nền biểu mô hóa từ đáy vết thương kết hợp với mô hạt, nhiều dịch mủ và giả mạc hơn.
Dị ứng tại chỗ	Không	Không
Nền tổn thương khi khỏi	Phẳng, hồng, mềm mại	Phẳng, hồng, mềm mại

Bảng 3.20. Diễn biến hoại tử tại chỗ vết thương bỏng độ III sâu

Chỉ tiêu nghiên cứu	**Vùng A (Ceri nitrat) (n=21)**	**Vùng B (SSD) (n=21)**	**p**
Diện tích đắp thuốc (% DTCT)	2,40 ± 0,78	2,38 ± 0,85	>0,05
Thời gian hoại tử chuyển khô (ngày)	2,61 ± 0,49	-	
Thời gian rụng/tan rữa hoại tử (ngày)	7,2 ± 0,7	7 ± 0,7	>0,05
Thời gian rụng sạch hoại tử (ngày)	10,52 ± 0,81	10,81 ± 1,12	>0,05
Thời gian khỏi hoàn toàn (ngày)	20,24 ± 1,26	21,19 ± 0,92	<0,01

Thời gian hoại tử chuyển khô ở vết thương bỏng độ III sâu đắp ceri nitrat là 2,62 ± 0,49 ngày. Vết thương bỏng độ III sâu đắp SSD không chuyển hoại tử khô.

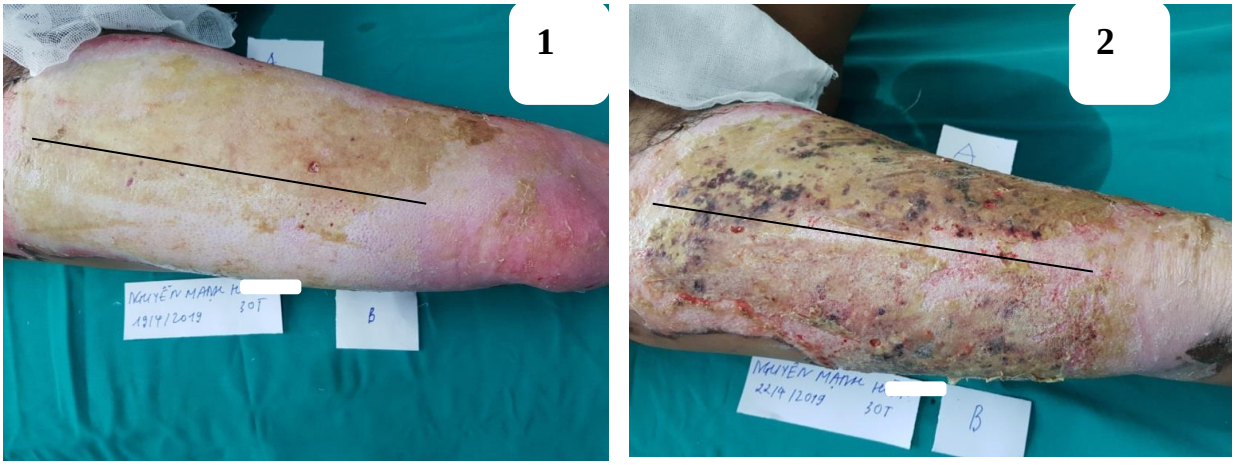
Thời gian rụng/tan rữa hoại tử, rụng sạch hoại tử và thời gian biểu mô hóa ở vết thương bỏng độ III sâu được đắp ceri nitrat không khác biệt với nhóm SSD.

Thời gian khỏi hoàn toàn ở vết thương bỏng độ III sâu đắp ceri nitrat ngắn hơn so với vết thương bỏng độ III sâu đắp SSD, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Hình 3.11. Tổn thương bỏng lửa độ III sâu ngày thứ 3 sau bỏng (ngày nghiên cứu thứ nhất)

Vết bỏng có hoại tử ướt vùng đùi phải, sung huyết mạnh, nề vừa có độ sâu đồng đều, được chia làm 2 vùng đăp thuốc tương đương nhau về diện tích (1). Vùng A đắp gel ceri nitrat, vùng B đắp SSD 1% (2).

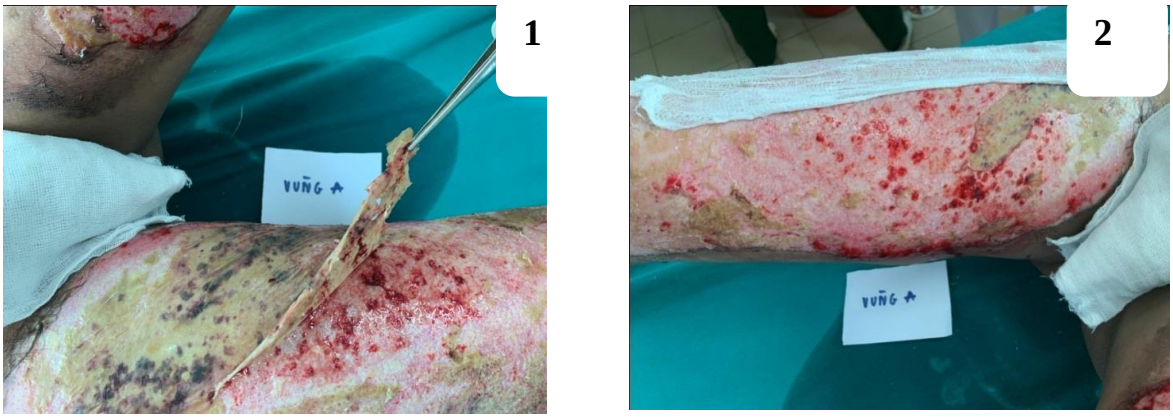
(BN Nguyễn Mạnh H. 30 tuổi - SBA: 0011-VB-2536)



Hình 3.12. Tổn thương bỏng độ III sâu tuần nghiên cứu thứ nhất

Lớp hoại tử vùng A bắt đầu chuyển hoại tử khô vào ngày nghiên cứu thứ 3 (1); và chuyển khô hoàn toàn vào ngày nghiên cứu thứ 6 (2). Trong khi vùng B, vẫn hoại tử ướt và có dấu hiệu sưng nề.

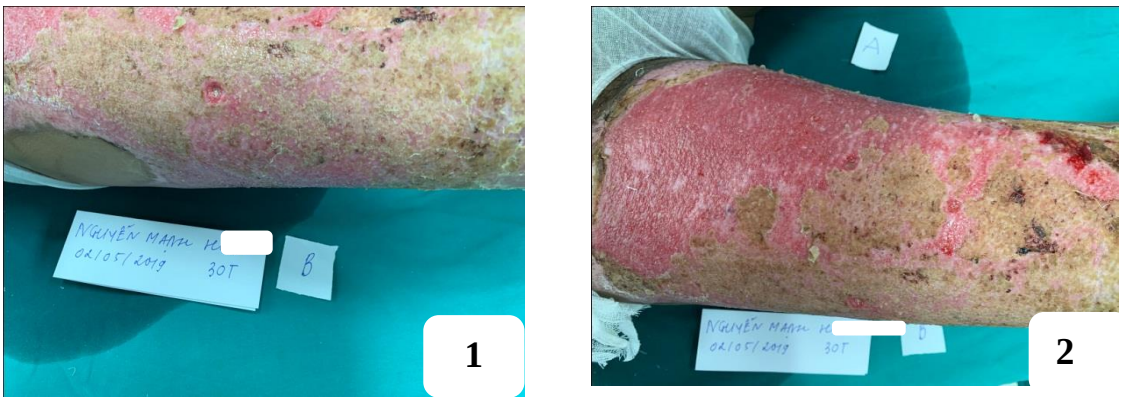
(BN Nguyễn Mạnh H. 30 tuổi - SBA: 0011-VB-2536)



Hình 3.13. Tổn thương bỏng độ III sâu vùng A, ngày nghiên cứu thứ 7

Lớp hoại tử bắt đầu rụng cả mảng (1), dưới hoại tử là nền tổn thương sạch, hồng, rớm máu, thuận lợi cho biểu mô hóa (2).

(BN Nguyễn Mạnh H. 30 tuổi - SBA: 0011-VB-2536)



Hình 3.14. Tổn thương bỏng độ III sâu ngày nghiên cứu thứ 16

Vùng A, vết thương hồng sạch, biểu mô hóa tốt (2). Vùng B vẫn còn lớp vảy tiết khô bám chắc (1). (BN Nguyễn Mạnh H. 30 tuổi - SBA: 0011-VB-2536)

Hình 3.15. Tổn thương bỏng độ III sâu ngày nghiên cứu thứ 18

Vùng A và vùng B đều cơ bản đã biểu mô hóa kín tổn thương. (BN Nguyễn Mạnh H. 30 tuổi - SBA: 0011-VB-2536)

b) Đặc điểm vi khuẩn ở vết thương bỏng độ III sâu

Bảng 3.21. Tỷ lệ % vết thương bỏng độ III sâu cấy khuẩn dương tính

Thời gian	**Tỷ lệ % cấy khuẩn (+)**		p
	Vùng A (Ceri nitrat) (n= 21)	**Vùng B (SSD) (n= 21)**	
D0	33,3 (7/21)	28,6 (6/21)	> 0,05
D7	42,9 (9/21)	76,2 (16/21)	< 0,05
D14	38,2 (8/21)	57,2 (12/21)	< 0,01

Trước đắp thuốc, số vết thương mọc vi khuẩn là tương đương nhau giữa vùng A và vùng B. Sau 7 ngày, số vết thương mọc vi khuẩn cao hơn so với ngày trước đắp thuốc nhưng thấp hơn so với vùng B. Ngày thứ 14, tỷ lệ vết thương có mọc vi khuẩn thấp hơn đáng kể so với vùng B

Bảng 3.22. Tỷ lệ các loài vi khuẩn tại vết thươngcấy khuẩn dương tính

Thời gian	**Loại vi khuẩn**	**Vùng A (Ceri nitrat) (n= 21)**	**Vùng B (SSD) (n= 21)**	P
D0	*E. coli*	2 (28,57%)	1 (16,66%)	
	P. aeruginosa	1 (14,28%)	2 (33,33%)	> 0,05
	S. aureus	4 (57,14%)	3 (50,00)	> 0,05
D7	*Enterobacter*	1 (11,11%)	1 (6,25%)	
	P. aeruginosa	4 (44,44%)	8 (50,00%)	< 0,05
	S. aureus	4 (44,44%)	7 (43,75%)	< 0,05
D14	*P. aeruginosa*	4 (50,00%)	8 (66,66%)	< 0,05
	S. aureus	4 (50,00%)	4 (33,33%)	> 0,05

Ở vết thương bỏng nông, cấy khuẩn trước khi nghiên cứu thấy VK chủ yếu là *P. aeruginosa* và *S. aureus* . Tỷ lệ cấy khuẩn dương tính của hai loài này là tương đương nhau giữa 2 vùng.

Ngày thứ 7, không có sự gia tăng mọc *S. aureus tại vùng A nhưng có sự tăng mạnh S. aureus ở vùng B.*

Sau 14 ngày điều trị, tỷ lệ vết thương bỏng độ III sâu điều trị ceri nitrat có VK *P. aeruginosa* ít hơn so với nhóm điều trị SSD, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,05. Với *S. aureus* số vết bỏng độ III sâu điều trị ceri nitrat và SSD mọc loài vi khuẩn này là như nhau.

Bảng 3.23. Mật độ VK/cm^2 vết thương bỏng độ III sâu

Thời gian	Vùng A (Ceri nitrat) (x10^3)	Vùng B (SSD) (x10^3)	p
D 0	n= 7	n= 6	
	280 ± 115,2	380 ± 161,8	> 0,05
D 7	n= 9	n= 16	
	573,3 ± 241,7	762,8 ± 314,4	> 0,05
D 14	n= 8	n= 12	
	296,9 ± 93,3	403,3 ± 80,1	< 0,05

Ngày nghiên cứu thứ 7, mật độ vi khuẩn vết bỏng hai vùng tương đương nhau và đều tăng hơn so với ngày trước nghiên cứu.

Ngày nghiên cứu thứ 14, mật độ vi khuẩn vùng đắp ceri nitrat giảm mạnh so với vùng đắp SSD, p < 0,05.

c) Thay đổi chỉ số huyết học, hóa sinh máu ở bệnh nhân độ III sâu

Bảng 3.24. Thay đổi chỉ số huyết học ở bệnh nhân bỏng độ III sâu

Chỉ số	Thời điểm nghiên cứu		
	D0	D7	D14
Bạch cầu (G/l)	12,09 ± 4,14	9,1 ± 5,1	8,6 ± 5,2
Hồng cầu (T/l)	4,6 ± 0,6	3,5 ± 1,6	3,1 ± 1,7
Hemoglobin (g/l)	135,4 ± 19,4	100.8 ± 50,2	92,4 ± 52,2
Hematocrit (l/l)	0,4 ± 0,05	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Tiểu cầu (G/l)	232,3 ± 73,8	225,1 ± 147,6	473,9 ± 188,5

Số lượng bạch cầu, hồng cầu máu, huyết sắc tố và hematocrit ngoại vị giảm dần, nhưng trong giới hạn bình thường.

Số lượng tiểu cầu có sự tăng dần nhưng cũng nằm trong giới hạn bình thường.

Bảng 3.25. Thay đổi chỉ số hóa sinh máu ở bệnh nhân bỏng độ III sâu

Chỉ số	Thời điểm		
	D0	**D7**	**D14**
GOT (U/l)	52,9 ± 79,1	76,6 ± 60,5	38,1 ± 18,2
GPT (U/l)	72,8 ± 141,2	93,0 ± 68,6	50,1 ± 28,4
Ure (mmol/l)	4,7 ± 1,4	3,8 ± 0,9	4,3 ± 2,0
Creatinin (µmol/l)	71,1 ± 19,6	67,7 ± 19,1	64,3 ± 19,9
Glucose (mmol/l)	6,5 ± 2,8	7,8 ± 3,2	6,2 ± 1,8
Protein (g/l)	62,7 ± 11	58,4 ± 7,5	62,8 ± 10,5
Albumin (g/l)	34 ± 6,4	28,1 ± 4,3	29,5 ± 4,8

Các chỉ số hóa sinh máu thường quy trước và sau đắp ceri nitrat đều trong giới hạn bình thường.

d) Diễn biến mô bệnh học tại chỗ vết thương bỏng độ III sâu

Bảng 3.26. Thay đổi tế bào học tại về mặt vết bỏng độ III sâu

Thời điểm	**Vùng A (Ceri nitrat) (n= 20)**	**Vùng B (SSD) (n= 20)**
Lần 1 (Trước khi đắp thuốc)	Nền dịch rỉ viêm bắt mầu hồng thuần nhất, nhiều đám TB hoại tử, thoái hóa, rải rác hồng cầu. TB viêm nằm rải rác hoặc tập trung thành từng đám chủ yếu là BCĐNTT. SLTB viêm: 17,8 ± 5,6	Nền dịch rỉ viêm bắt mầu hồng thuần nhất, nhiều đám TB hoại tử, thoái hóa, rải rác hồng cầu. TB viêm nằm rải rác hoặc tập trung thành từng đám chủ yếu là BCĐNTT. SLTB viêm: 18,3 ± 2,98
Lần 2 (Sau khi đắp thuốc 7 ngày)	Nền dịch rỉ viêm, các đám tế bào biểu bì hoại tử. TB viêm nhiều hơn, tập trung thành từng đám. Có ít sợi collagen, nguyên bào sợi, hồng cầu. Một số gặp các TB biểm mô lớp gai, hạt của biểu bì. SLTB viêm: 33,9 ± 5,82	Hình ảnh viêm tương tự vùng A: nền dịch rỉ viêm, TB biểu bì hoại tử. TB viêm dày đặc, rải rác nguyên bào sợi. Ít gặp hình ảnh TB biểu mô lớp gai, hạt SLTB viêm: 33,9 ± 6,89
Lần 3 (Sau đắp thuốc 14 ngày)	Ít gặp các TB biểu bì hoại tử, các TB viêm vẫn còn nhưng rải rác. Gặp các tế bào lớp gai, lớp hạt hoặc lớp sừng (gặp tỷ lệ cao vùng B).	Hình ảnh viêm với dịch rỉ viêm, TB viêm còn nhưng rải rác. Gặp TB lớp gai, lớp hạt hoặc lớp sừng (ít hơn vùng A).

3.2.2.2. Tác dụng điều trị của gel ceri nitrat tại vết thương bỏng sâu

a) Diễn biến vết thương bỏng sâu đắp gel ceri nitrat

Bảng 3.27. Diễn biến tại chỗ vết thương bỏng độ IV

Triệu chứng	Vùng A (Ceri nitrat) (n= 20)	Vùng B (SSD) (n= 20)
Cảm giác đau, rát tại chỗ sau đắp thuốc nghiên cứu	Không đau	Không đau
Tình trạng viêm nề	Viêm nề kéo dài (mức độ ít hơn so với vùng B), giảm rõ khi cắt hoại tử, ghép da phủ. Không gặp viêm nề vết thương lan ra vùng da lành.	Viêm nề vết thương rõ hơn so với vùng A, viêm nề lan nhẹ ra viền mép vết thương.
Tình trạng dịch xuất tiết, dịch mủ	Dịch xuất tiết, dịch mủ, giả mạc giảm dần từ ngày thứ 2	Dịch xuất tiết, dịch mủ, giả mạch nhiều và kéo dài hơn so với vùng A
Dị ứng tại chỗ	Không	Không
Nền tổn thương khi khỏi	Da bám tốt, mềm mại, đổi màu nhẹ so với da lành (thẫm hơn)	Tương tự vùng A

Bảng 3.28. Diễn biến hoại tử tại chỗ vết thương bỏng độ IV

Chỉ tiêu nghiên cứu	Vùng A (Ceri nitrat) (n= 20)	Vùng B (SSD) (n= 20)	p
Diện tích đắp thuốc (% DTCT)	2,20 ± 0,82	2,19 ± 0,87	>0,05
Thời gian hoại tử chuyển khô (ngày)	2,60 ± 0,50	Không	
Thời gian cắt hoại tử (ngày)	6,25 ± 0,79	6,25 ± 0,79	
Thời gian bám sống của mảnh da ghép	7,10 ± 0,55	7,70 ± 0,57	<0,01
Kết quả ghép da	- Tốt: 18/20 BN - Khá: 02/20 BN	- Tốt: 18/20 BN - Khá: 02/20 BN	

Thời gian hoại tử chuyển khô ở vết thương bỏng sâu đắp ceri nitrat là 2,60 ± 0,50 ngày, trong khi đó vùng đắp SSD không có dấu hiệu chuyển khô.

Thời gian cắt hoại tử, kết quả ghép da ở vết thương bỏng sâu đắp ceri nitrat không khác biệt với nhóm SSD.

Hình 3.16. Đắp thuốc điều trị tổn thương bỏng độ IV chân phải ngày nghiên cứu thứ nhất

Vết thương hoại tử ướt, bẩn, nhiều dịch xuất tiết, nề mạnh (1); Tổn thương được chia làm 2 vùng tương đương, vùng A phía dưới đùi và cẳng chân diện tích 3% được đắp gel ceri nitrat, vùng B phía trên đùi diện tích 3% đắp cream SSD (2).

(BN Nguyễn Thị Ch. - Số bệnh án: 0011-VB-2495)

Hình 3.17. Đặc điểm tổn thương bỏng sâu độ IV ngày nghiên cứu thứ 6

Vùng A hoại tử chuyển khô, dịch ít, không giả mạc (1). Vùng B hoại tử ướt, dịch và giả mạc nhiều, hoại tử đang viêm mủ, tan rữa và rụng (2).

(BN Nguyễn Thị Ch. - Số bệnh án: 0011-VB-2495).

Hình 3.18. Cắt hoại tử và ghép da tổn thương bỏng độ IV

Ngày nghiên cứu thứ 7, cả hai vùng nghiên cứu đều được cắt toàn bộ hoại tử và tiến hành ghép da tự thân ngay trong một cuộc mổ.

(BN Nguyễn Thị Ch. - Số bệnh án: 0011-VB-2495)

Hình 3.19. Kết quả ghép da tổn thương bỏng độ IV

Tổn thương sau ghép da vùng A, da bám sống 100% (1), vùng B, da bám sống 100% (2). (BN Nguyễn Thị Ch. - Số bệnh án: 0011-VB-2495)

b) Đặc điểm vi khuẩn ở vết thương bỏng độ IV đắp gel ceri nitrat

Bảng 3.29. Tỷ lệ % vết thương bỏng độ IV cấy khuẩn dương tính

Thời gian	**Vùng A (Ceri nitrat) (n= 20)**	**Vùng B (SSD) (n= 20)**	p
D0	85 (3/20)	85 (3/20)	> 0,05
D7	55 (9/20)	50 (10/20)	> 0,05
p	< 0,01	< 0,01	

Trước đắp thuốc, số vết thương mọc vi khuẩn là tương đương nhau giữa vùng A và vùng B.

Ngày thứ nghiên cứu thứ 7, hai vùng đều có số số vết thương mọc vi khuẩn tương đương nhau nhưng thấp hơn so với thời điểm trước đắp thuốc.

Bảng 3.30. Tỷ lệ loài vi khuẩn tại vết bỏng độ IV cấy khuẩn dương tính

Thời gian	**Loại vi khuẩn**	**Vùng Ceri nitrat (n= 20)[1]**	**Vùng SSD (n= 20)[2]**	P
D0	*Aci. baumanii*	2 (10,0%)	2 (10,0%)	> 0,05
	E. cloaceae	1 (5,0%)	2 (10,0%)	> 0,05
	P. aeruginosa	7 (35,0%)	6 (30,0%)	> 0,05
	S. aureus	7 (35,0%)	7 (35,0%)	> 0,05
D7	*E. cloaceae*	1 (5,0%)	1 (5,0%)	> 0,05
	P. aeruginosa	5 (25%)	4 (20%)	> 0,05
	S. aureus	5 (25,0%)	5 (25,0%)	> 0,05

Trước đắp thuốc, vết bỏng độ IV thường gặp *P. aeruginosa* (Ceri nitrat: 35,0%; SSD: 30,0%) và *S.aureus* (Ceri nitrat: 35,0% và SSD: 35,0%).

Sau điều trị 7 ngày, tỷ lệ vết bỏng độ IV điều trị ceri nitrat có *P. aeruginosa và S.aureus* (25,0% và 25,0%) không khác biệt so với nhóm điều trị SSD (20,0% và 25,0%), (p>0,05).

Bảng 3.31. Số lượng vi khuẩn trên 1 cm^2 vết thương bỏng độ IV

Thời gian	Vùng A (Ceri nitrat) (x10^3)	Vùng B (SSD) (x10^3)	P
D0	n= 17	n= 17	
	771,2 ± 409,8	715,3 ± 485,6	> 0,05
D7	n= 11	n= 10	
	515,9 ± 456,1	555 ± 278,7	> 0,05
p	< 0,05	< 0,05	

Ở vết thương bỏng sâu, sau 7 ngày điều trị ceri nitrat và SSD, số lượng VK trên 1 cm^2 vết bỏng sâu giảm xuống so với trước đắp thuốc.

Không có sự khác biệt về mật độ vi khuẩn tại 2 vùng trước đắp thuốc và ngày nghiên cứu thứ 7.

c) Thay đổi chỉ số huyết học, hóa sinh máu ở bệnh nhân bỏng độ IV

Bảng 3.32. Thay đổi các chỉ số huyết học ở bệnh nhân bỏng độ IV điều trị ceri nitrat

Chỉ số	Thời điểm		
	D0	**D7**	**D14**
Bạch cầu (G/l)	15,1 ± 4,5	8,6 ± 5,6	6,0 ± 6,3
Neutro (%)	78,9 ± 8,8	58,2 ± 34,7	36,4 ± 36,2
Hồng cầu (T/l)	4,73± 1,02	3,98±0,63	4,04±0,48
Hb (g/l)	144,1 ± 21,7	115±19,26	121,35±17,13
Hct (l/l)	0,42 ± 0,06	0,35 ± 0,07	0,36 ± 0,04
Tiểu cầu (G/l)	220,4 ± 69,6	273,3 ± 189,3	434,3 ± 140,6

Số lượng bạch cầu tăng cao ở thời điểm trước đắp thuốc và trở về bình thường tại thời điểm ngày nghiên cứu thứ 7 và 14.

Số lượng hồng cầu, hàm lượng Hb và Hct trong giới hạn bình thường.

Số lượng tiểu cầu tăng dần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,001, nhưng vẫn nằm trong giới hạn bình thường.

Bảng 3.33. Các chỉ số hóa sinh máu ở bệnh nhân bỏng độ IV điều trị ceri nitrat

Chỉ số	Thời điểm		
	D0	**D7**	**D14**
GOT (U/l)	63,6 ± 74,6	70,1 ± 64	29,3 ± 16,7
GPT (U/l)	48,8 ± 54,8	92,8 ± 67,3	56,3 ± 35,9
Ure (mmol/l)	4,9 ± 1,6	4,05 ± 0,9	4,3 ± 0,7
Creatinin (µmol/l)	76,6 ± 19,0	64,5 ± 8	64 ± 10,3
Glucose (mmol/l)	5,7 ± 1,1	6,8 ± 1,5	5,9 ± 1,6
Protein (g/l)	63,4 ± 9,7	63,7 ± 7,1	69,6 ± 3,7
Albumin (g/l)	34,2 ± 5,9	29,9 ± 4,1	34,1 ± 3,0

Không thấy có biến đổi về các chỉ số hóa sinh máu thường quy trước đắp thuốc và ngày nghiên cứu thứ 7 và 14.

d) Hình thái cấu trúc mô vết thương bỏng độ IV

Bảng 3.34. Thay đổi mô bệnh học vết thương bỏng độ IV

TG	Vùng A (Ceri nitrat) (n= 20)	Vùng B (SSD) (n=20)
D0	Hoại tử đông đến lớp chân bì bao gồm các nang lông và tuyến mồ hôi. Mô liên kết bị hyalin hóa, mô kẽ có ít dịch phù. Tế bào viêm rải rác, mạch máu và nguyên bào sợi thưa thớt. - Số lượng tế bào viêm: 2,90 ± 1,29 - Nguyên bào sợi: 1,45 ± 0,76 - Mạch máu tân tạo: 0,70 ± 0,66 Lớp mỡ có các mạch máu xung huyết, xâm nhiễm nhiều bạch cầu N	Mô hoại tử có các sợi tơ huyết, nhiều dịch phù. Mô liên kết xơ bị hyalin hóa, mạch máu bị xuất huyết, hoại tử, mô kẽ có ít dịch phù. Tế bào viêm rải rác bề mặt tổn thương. Mạch máu, nguyên bào sợi thưa thớt. - Số lượng tế bào viêm: 2,80 ± 1,70 - NBS: 1,65 ± 0,88 - Mạch máu tân tạo: 1,15 ± 0,81 Trong lớp mỡ có các mạch máu sung huyết, xâm nhiễm nhiều N
D7	Tế bào viêm tập trung sát đáy tổn thương. Tăng sinh mạch máu, nguyên bào sợi, sợi collagen. - Số lượng tế bào viêm: 18,75 ± 8,35 - Nguyên bào sợi: 9,70 ± 3,93 - Mạch máu tân tạo: 5,95 ± 3,90	Nhiều tế bào viêm, còn phù viêm, khoảng gian bào giãn rộng. Tăng sinh mạch máu, nguyên bào sợi. - Số lượng tế bào viêm: 22,05 ± 13,19 - Nguyên bào sợi: 9,60± 3,87 - Mạch máu tân tạo: 7,10 ± 3,92

Hình minh họa tại Phụ lục 1 kèm theo

CHƯƠNG 4
BÀN LUẬN

4.1. ĐỘC TÍNH CẤP, BÁN CẤP VÀ TÍNH KÍCH ỨNG DA CỦA CERI NITRAT

4.1.1. Độc tính cấp của gel ceri nitrat

Theo OECD, độc tính cấp tính là tác dụng độc xuất hiện ngay sau khi sử dùng một hoặc nhiều liều lượng các chất hóa học trong 24 giờ. Nghiên cứu độc tính cấp tính được tiến hành để xác định độc tính chính xác của một chất hóa học, độ nhạy cảm của một loài động vật gây nên độc tính, các cơ quan đích và các thông tin đánh giá nguy cơ sau khi tiếp xúc cấp tính với các chất hóa học [120]. Dựa theo quyết định số 371/BYT-QĐ ngày 12/3/1996 của Bộ Y tế và của WHO về xác định độ an toàn cho các chế phẩm có nguồn gốc thiên nhiên, chúng tôi sử dụng chuột nhắt trắng để đánh giá độc tính cấp của thuốc. Kết quả cho thấy chuột được cho uống gel ceri nitrat với mức liều tối đa chuột có thể uống là 40g/kg/24h (tương đương 880 mg ceri nitrat tinh khiết) không gây chết hay bất cứ biểu hiện bất thường nào trên chuột và chuột sống bình thường tới ngày 14 (kết thúc nghiên cứu). Không thấy xuất hiện các biểu hiện bất thường trên lâm sàng và trên mô bệnh học gan, lách, thận ở chuột nhóm nghiên cứu (Bảng 3.1 và Hình 3.1). Tham khảo các tài liệu nghiên cứu về độc tính cấp của chế phẩm ceri nitrat cho thấy, LD_{50} của cerium nitrate trên chuột cống trắng là 3154 mg/kg, và chưa tìm thấy giá trị LD_{50} khi dùng ngoài da, nghiên cứu của chúng tôi tương đương với các kết quả này. Như vậy chế phẩm gel ceri nitrat 2,2% là an toàn.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với các nghiên cứu đã công bố, ceri nitrat có độc tính rất thấp [81], [115], [116].

Monafo W. W. và cs. (1976) đã xác nhận ceri nitrat không được phát hiện hoặc chỉ xuất hiện ở nồng độ rất thấp trong huyết thanh khi được sử dụng

trên lâm sàng [81]. Ha L. Y và cs. (2015) đã tính toán nồng độ tối đa để tắm trị liệu cho BN bằng ceri nitrat thấp hơn hàng nghìn lần LD_{50} của thuốc trên chuột nghiên cứu [115].

Ramesh A. và cs. (2014) nghiên cứu độc tính cấp và bán cấp của hạt nano Cerium oxide trên chuột Wistar albino theo hướng dẫn của OECD [116].

Liều 880 mg/kg trọng lượng cơ thể ở chuột nhắt (tương đương 40 gram gel ceri nitrat 2,2%/kg trong 24h), quy đổi ra liều trên người là 73,33 mg/kg (hệ số quy đổi là 12, theo Reagan-Shaw, 2008) [121].

Như vậy, với một người nặng 50 kg có thể uống 166,67g gel ceri nitrat 2,2% mà không gây độc tới cơ thể.

4.1.2. Độc tính bán trường diễn của gel ceri nitrat

Độc tính bán trường diễn xác định bởi OECD: những tác dụng phụ xảy do dùng lặp đi lặp lại liều hóa chất hàng ngày cho động vật thí nghiệm cho một phần (không quá 10%) của tuổi thọ. Nghiên cứu độc tính bán cấp cung cấp thông tin về độc tính tích lũy, cơ quan đích và khả năng dung nạp sinh lý và chuyển hóa của hợp chất ở liều thấp nhưng tiếp xúc kéo dài [123].

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng bằng đường uống gel ceri nitrat với liều 1 g/kg/24 giờ, sau 28 ngày thấy trọng lượng chuột và trạng thái toàn thân, các chỉ tiêu xét nghiệm sinh hóa, huyết học, mô bệnh học đánh giá chức năng tạo máu, gan, thận, lách không bị ảnh hưởng (Bảng 3.3- 3.4 và Hình 3.2).

Điều này tương tự cũng tương tự như nghiên cứu của nhiều tác giả khác là không có chuột nào chết, không có dấu hiệu thay đổi hành vi và đặc điểm bên ngoài như lông, da; cũng như không thấy sự khác biệt có ý nghĩa trong các thông số máu ngoại vi giữa 2 nhóm chứng và nhóm điều trị [116], [117].

Ramesh A. và cs. (2014) nghiên cứu độc tính bán cấp của hạt nano Cerium oxide trên chuột Wistar albino theo hướng dẫn thử nghiệm OECD: chuột được uống Cerium oxide với liều 500, 1000 và 2000 mg/kg/ngày trong

28 ngày, bằng đường uống. Không thấy có dấu hiệu nhiễm độc/tử vong. Không có thay đổi đáng kể nào ($p<0,01$) về trọng lượng cơ thể, trọng lượng các tạng, các chỉ số huyết học, sinh hóa máu ở các mức liều khác nhau. Không thấy có tổn thương trên mô bệnh học [116].

Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của gel ceri nitrat trên chuột cống, quy đổi ra liều trên người là 3,67mg/kg/24 giờ hoặc 8,33g/50kg/24 giờ (hệ số quy đổi là 6, theo Reagan-Shaw S., 2007 [121]).

Như vậy, gel ceri nitrat là thuốc không gây rối loạn toàn thân, độ an toàn cao, cho phép sử dụng kéo dài.

4.1.3. Tính kích ứng da của dung dịch và gel ceri nitrat

Chúng tôi đánh giá độ kích ứng da của gel ceri nitrat trên da lành thỏ theo hướng dẫn của OECD thấy chế phẩm thuốc không gây ra phản ứng phù nề, tấy đỏ tại chỗ và vùng lân cận, không xuất hiện dị ứng (không có biểu hiện mẩn ngứa, da mịn bóng như trước khi bôi). Điểm trung bình kích ứng sơ cấp bằng 0 tại vùng áp gel ceri nitrat. Trạng thái của tất cả chuột sau bôi 72 giờ khỏe mạnh, bình thường (Bảng 3.5 và Hình 3.4).

Tác dụng này có lẽ là do ceri nitrat ức chế tác dụng thoái biến của tế bào mast, ức chế bài tiết histamin từ tế bào mast và tế bào ái kiềm, ức chế bơm ATPase của màng tế bào [76], [77].

4.2. ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG KHÁNG KHUẨN CỦA GEL CERI NITRAT

4.2.1. Căn nguyên gây nhiễm khuẩn vết thương bỏng

Nhiễm khuẩn là nguyên nhân chính làm tăng tỷ lệ mắc và tử vong ở BN bỏng, đặc biệt là nhiễm khuẩn do VK đa kháng thuốc. Các biện pháp để giảm nguy cơ nhiễm khuẩn vết thương và nhiễm khuẩn huyết là cắt bỏ sớm hoại tử bỏng, sử dụng các loại cream kháng khuẩn tại chỗ như SSD [83].

Các VK như *Staphylococci, Pseudomonas, E. coli* thường bám vào vết thương sau vài phút, hình thành các khóm VK bám vào vết thương một cách mạnh mẽ trong 2-4 giờ, phát triển chất nền ban đầu và trở nên dung nạp với

các chất diệt khuẩn (kháng sinh, khử trùng..) một cách nhanh chóng trong vòng 6-12 giờ, phát triển thành các khóm biofilm trưởng thành hoàn toàn giúp đề kháng mạnh mẽ với các chất kháng khuẩn và giúp lan tràn VK trong vòng 2-4 ngày [27].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về sự phân bố các loài VK thường gặp tại vết thương bỏng thực nghiệm cho thấy ở ngày thứ 3, cấy khuẩn vết thương bỏng trên chuột cống trắng thấy vi khuẩn *P. aeruginosa* có số lần mọc nhiều nhất (37,1%), tiếp đến là vi khuẩn *S. aureus (22,9%)* và cuối cùng là *Enterobacter* (11,4%). Nghiên cứu trên lâm sàng thấy cấy khuẩn ở ngày thứ 1, ở vết thương bỏng độ III sâu, VK chủ yếu là *P. aeruginosa* (Ceri nitrat: 4,8%; SSD: 9,5%) và *S. aureus* (Ceri nitrat: 19,0%; SSD: 14,3%). Ở vết thương bỏng sâu, VK cũng thường gặp là *P. aeruginosa* (Ceri nitrat: 35,0%; SSD: 30,0%) và *S.aureus* (Ceri nitrat: 35,0% và SSD: 35,0%), (Bảng 3.14, 3.22 và 3.30).

Kết quả này cùng phù hợp với các nghiên cứu về nhiễm khuẩn ở thương bỏng: căn nguyên gây nhiễm khuẩn hàng đầu là *P. aeruginosa*, *Aci. baumannii* và *S. aureus* [20], [21], [26], [42], [47], [48], [49], [50].

Latifi N. A. và cs. (2017) nghiên cứu 1.721 BN bỏng (26,3 ± 20,25 tuổi; thời gian nằm viện là 14,41 ngày; diện tích bỏng trung bình là 16,48%) thấy tỷ lệ tử vong là 5,9%. Tỷ lệ nhiễm khuẩn vết bỏng là 38,54%. Loài VK thường gặp nhất là *Staphylococcus spp*. (55,1%), tiếp theo là *Pseudomonas* (14,29%), *Enterococcus* (12,24%), *E. coli* (4%), *Klebsiella* và *Proteus* (đều là 2%). Các tác giả thấy có mối tương quan giữa cấy khuẩn vết bỏng dương tính với cấy máu và nước tiểu, hầu hết đều cùng một loài VK, phổ biến thường gặp nhất là *P. aeruginosa*. Hơn 39,2% BN cấy khuẩn dương tính có từ 3 lần cấy dương tính trở lên và 36,5% BN có cùng một loại VK, đây là dấu hiệu của nhiễm khuẩn lan tỏa [42].

Li L. và cs. (2018) phân lập được 1.891 chủng VK gây bệnh từ 3.835 mẫu bệnh phẩm ở 1.449 BN bỏng thấy tỷ lệ phát hiện là 49,3%. Tác nhân gây bệnh chủ yếu là VK gram âm (57,6%), tiếp đến là VK gram dương (36,4%) và nấm (6,0%). Năm loại VK chiếm ưu thế là *S. aureus* (19,0%), *Aci. baumannii* (17,6%), *P. aeruginosa* (16,7%), *K. pneumoniae* (7,4%) và *Enterococcus faecalis* (4,5%) [26].

Chaudhary N. A. và cs. (2019) nghiên cứu 178 mẫu bệnh phẩm lấy từ 109 BN bỏng. Cấy khuẩn sau 24 giờ thấy 122 vết thương bỏng (68,5%) dương tính với VK và 56 vết thương bỏng (31,4%) âm tính. Các mẫu cấy khuẩn dương tính chủ yếu ở các vết thương bỏng kéo dài hơn một tuần ($p<0,002$). Trong số các mẫu bệnh phẩm dương tính có 119 mẫu (75,31%) phân lập được trực khuẩn gram âm và 39 mẫu (24,68%) là cầu khuẩn gram dương. Các VK thường gặp nhất là *P. aeruginosa*- 41 mẫu (24,95%), tiếp đến là *S. aureus*- 38 mẫu (24,05%). Ở vị trí thứ ba là *Acinetobacter* - 27 mẫu (17,09%), tiếp theo là *Klebsiella* - 24 mẫu (15,19%), *E. coli* – 13 mẫu (8,23%), *Proteus* - 7 mẫu (4,43%), khác- 6 mẫu (3,8%), *Enterococcus* - 1 mẫu (0,63%), và *Enterobacter* - 1 mẫu (0,63%). 27/38 (71,05%) mẫu phân lập *S. aureus* là *S. aureus* kháng methicillin [4].

Gupta M. và cs. (2019) nghiên cứu 272 gạc vết thương của BN bỏng, thấy 62,8% mẫu dương tính với VK. Các mẫu cấy VK dương tính cho thấy sự hiện diện của 8 loài VK là *Pseudomonas, Klebsiella, Acinetobacter, Escherichia, Enterobacter, Burkholderia, Staphylococcus và Proteus. Pseudomonas spp* (43%) là mầm bệnh phổ biến nhất được phân lập từ vết thương bỏng, tiếp theo là *K. pneumoniae* (28%), *Aci. baumannii* (14,83%), *E. coli* (6,59%), *Enterobacter cloacae* (2,20%), *Burkholderia cepacia* (1,65%), *S. aureus* (1,62%) và *Proteus mirabilis* (1,10%) [21].

Chen Y. Y. và cs. (2020) nghiên cứu 1.132 mẫu bệnh phẩm thu thập từ 37 BN bỏng với diện tích bỏng trung bình là 46,1%. Các loài VK phân lập

được phổ biến nhất là *Staphylococcus spp.* (22,4%). Tỷ lệ kháng kháng sinh cao nhất được quan sát thấy ở *Aci. baumannii* kháng carbapenem (14,6%), tiếp theo là *S. aureus* kháng methicillin (11,3%). Cứ tăng thêm 10% diện tích bỏng, thì tỷ lệ VK đa kháng thuốc tăng 2,58–17,57 lần (p <0,05). Các tác giả cho rằng tỷ lệ VK phân lập được tăng lên cùng với sự gia tăng diện tích bỏng và thời gian sau bỏng. Diện tích bỏng là yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến nhiễm khuẩn do VK đa kháng thuốc [20].

Trong nghiên cứu của Nghiêm Danh Bảy (2012), khi cấy khuẩn trên các tổn thương bỏng nhận thấy *P. aeruginosa* là VK đứng hàng đầu 45,8%, tiếp theo là *S. aureus* chiếm tỷ lệ 25%, sau đó là *Enterobacter* 13,9% và *S.epidermidis* 12,5%, cuối cùng *E. coli* là 2,8% [46].

Trương Thị Thu Hiền (2015) nghiên cứu căn nguyên VK gây nhiễm khuẩn bỏng và mức độ kháng kháng sinh của 456 chủng VK phân lập tại Viện Bỏng Quốc gia năm 2014 thấy các loài VK gây nhiễm khuẩn vết thương bỏng đứng đầu là *P. aeruginosa* (33,4%), sau đó là *Aci. baumannii* (17,3%) và *S. aureus* (14,3%). Các loài VK đường ruột chiếm tỷ lệ từ 2,5-9%. [47].

Chu Anh Tuấn và cs. (2015) nghiên cứu 137 mẫu bệnh phẩm được cấy khuẩn ở các BN bỏng người lớn điều trị tại Khoa Điều trị tích cực - Viện Bỏng Quốc gia năm 2014 thấy tỷ lệ cấy khuẩn dương tính là 54,7% (dịch vết bỏng: 65,2%, máu: 21,2% và đầu catheter: 66,7%). Trong đó VK *P.aeruginosa* chiếm tỷ lệ cao nhất (45,2%), tiếp theo lần lượt là *S.aureus* (25,0%), *Aci. baumiani* (22,6%), *Bacillus spp.* (4,8%), *K.pneumonia* (2,4%) [49].

Lương Quang Anh và cs. (2016) hồi cứu 101 BN bỏng tại khoa Hồi sức cấp cứu, Viện Bỏng Lê Hữu Trác trong thời gian từ tháng 01/2014 đến tháng 12/2014 nhận thấy căn nguyên VK hàng đầu ở BN bỏng nặng là *P. aeruginosa* (62%), *S. aureus* (18%) và *Aci. baumannii* (12%). Các VK phân lập được chủ yếu sau 3-6 ngày và sau 14 ngày sau bỏng [50].

Lê Quốc Chiểu và cs. (2018) nghiên cứu trên 2.524 BN nằm điều trị tại Viện Bỏng Quốc gia từ tháng 4 đến tháng 9 năm 2017 thấy tỷ lệ cấy khuẩn (+) là 301/782 (38,5%), có sự khác nhau về tỷ lệ (+) giữa các loại bệnh phẩm, căn nguyên gây nhiễm khuẩn là *Aci. baumannii* (34,4%), *P. aeruginosa* (30,8%), *S. aureus* (18,6%) và *Candida spp.* (8,2%). Tỷ lệ VK gây nhiễm khuẩn tại chỗ vết thương P. aeruginosa (36,7%), *Aci. baumannii* (24,5%) và *S. aureus* (21,9%); gây nhiễm khuẩn máu: *Candida spp.* chiếm tỷ lệ cao nhất 39,1%, *Aci. baumannii* (26,2%), *P. aeruginosa* (13%) và *S. aureus* (13%). Tỷ lệ các chủng vi sinh vật được phân lập tại khoa Khoa Hồi sức cấp cứu: *Aci. baumannii* (50,5%), *P. aeruginosa* (22,0%), *Candida spp.* 14,5%; Khoa Bỏng người lớn và Khoa Bỏng trẻ em *S. aureus* chiếm tỷ lệ cao nhất, đứng thứ hai là *P. aeruginosa*; Khoa Liền vết thương: *P. aeruginosa* chiếm tỷ lệ cao nhất, tiếp theo là *Aci. aumannii, S. aureus, Pro. mirabilis* và *E. coli* [48].

4.2.2. Tác dụng kháng khuẩn in vitro của gel ceri nitrat

Chúng tôi đánh giá khả năng kháng khuẩn in vitro của gel ceri nitrat bằng phương pháp khuếch tán trên thạch đối với một số chủng VK thường gặp ở vết bỏng. Kết quả nghiên cứu cho thấy gel ceri nitrat có tác dụng cả với 2 chủng VK gram âm và VK gram dương (Bảng 3.6-3.7). Đặc biệt, gel ceri nitrat có tác dụng mạnh với tụ cầu vàng và trực khuẩn mủ xanh. Đây là một điều rất khích lệ khi sự kháng thuốc của tụ cầu vàng và trực khuẩn mủ xanh đang trở thành vấn đề có tính toàn cầu, là thách thức của y học.

Kết quả nghiên cứu này cũng đồng nhất với một số nghiên cứu về tác dụng kháng khuẩn của ceri nitrat trên in vitro [86], [104], [128].

Rosenkranz H. S. (1979) xác định hoạt tính kháng khuẩn của các loại cream có chứa ceri nitrat (2,2%), SSD (1%) hoặc hỗn hợp SSD- Ceri nitrat bằng quy trình pha loãng trên thạch. Hỗn hợp SSD- Ceri nitrat kháng khuẩn tốt hơn so với SSD đơn thuần (tương ứng là 26% và 74%). Mặc dù tác dụng

hiệp đồng cải thiện 250%, nhưng có một tỷ lệ nhất định (6%) các mẫu cấy biểu hiện tăng 800% độ nhạy với SSD. Tác dụng hiệp đồng lớn nhất được thấy đối với *Staphylococci*, thường chỉ kháng với SSD hơn các loài vi sinh vật khác. Các tác giả cho rằng hỗn hợp SSD- Ceri nitrat có hiệu quả trong việc ngăn ngừa và điều trị nhiễm khuẩn vết thương [128].

Marone P. và cs. (1998) xác định hoạt tính kháng khuẩn của SSD đơn thuần và kết hợp với ceri nitrat, gentamicin và amikacin đối với 130 chủng VK phân lập được trên lâm sàng, bao gồm cả VK đa kháng thuốc như *S. aureus* kháng methicillin (MRSA) hoặc *P. aeruginosa* thấy hoạt tính kháng khuẩn của SSD tốt với tất cả các chủng VK được thử nghiệm và đặc biệt cao đối với *S. aureus* kháng methicillin (MIC90 100 microg/ml). Ceri nitrat không có tác dụng ức chế đối với các chủng VK thử nghiệm, thậm chí lên đến 800 microg/ml. Sự kết hợp của ceri nitrat với SSD cũng có tác dụng kháng khuẩn như SSD [86].

Cobrado L. và cs. (2012) xác định tác dụng kháng khuẩn của ceri nitrat, chitosan trọng lượng phân tử thấp và hamamelitannin đối với các chủng VK *S. epidermidis*, *S. aureus* , *Aci. baumannii* và *Candida albicans* thấy ceri nitrat và chitosan trọng lượng phân tử thấp có tác dụng ức chế sự phát triển của tất cả các VK được thử nghiệm; hamamelitannin không có biểu hiện ức chế [104].

4.2.3. Nồng độ ức chế tối thiểu và diệt vi khuẩn hoàn toàn của gel ceri nitrat

Các nghiên cứu ghi nhận ceri nitrat có tác dụng diệt khuẩn mạnh, phụ thuộc vào nồng độ và pH. Ceri nitrat là một trong 8 tác nhân kháng khuẩn tại chỗ tốt nhất với *S.aureus* và *P.aeruginosa.* Cerium đi vào bào tương *E. coli* (tương phản hoàn toàn với tế bào của động vật có vú), ức chế hô hấp tế bào, ức chế chuyển hóa glucose và oxy. Về hình thái, thành tế bào còn nguyên vẹn nhưng bị phồng lên khi nhìn dưới kính hiển vi điện tử [65].

Nghiên cứu nồng độ tối thiểu ức chế VK (MIC) và nồng độ diệt khuẩn hoàn toàn (MBC) của gel ceri nitrat, chúng tôi thấy (Bảng 3.8):

Gel ceri nitrat có tác dụng làm giảm số lượng VK ở các nồng độ pha loãng tới 1/16. Nồng độ càng thấp, khả năng này càng giảm. Sau 2 giờ tiếp xúc, thuốc có hoạt lực diệt khuẩn hoàn toàn với *E. coli* và *S. aureus*. Với *P. aeruginosa*, hiệu lực diệt khuẩn hoàn toàn sau 6 giờ ở các nồng độ từ 1/2 tới 1/32. Gel ceri nitrat có nhạy cảm nhất với *S. aureus*, hoạt lực diệt khuẩn hoàn toàn sau 2 giờ tiếp xúc ở nồng độ pha loãng tới 1/8. Nhạy cảm thứ hai với gel là *E. coli*, thuốc có hiệu lực diệt khuẩn hoàn toàn sau 2 giờ ở nồng độ 1/2 và 1/4. *P. aeruginosa* nhạy cảm kém nhất (sức đề kháng dai nhất) so với *S. aureus và E. coli*, hiệu lực diệt khuẩn hoàn toàn không xuất hiện sau 2 giờ tiếp xúc nhưng để tiếp xúc sau 6 giờ thì nồng độ 1/32 vẫn có tác dụng diệt khuẩn hoàn toàn (Bảng 3.8).

Trên thực tế, nồng độ thuốc chủ yếu ở mức độ pha loãng 1/2 hoặc 1/4. Gel ceri nitrat hòa loãng 1/2 và 1/4, hiệu lực diệt khuẩn hoàn toàn với *E. coli* và *S. aureus* sau 2 giờ, với *P. aeruginosa* sau 6 giờ. Đây là những gợi ý cho thấy trên lâm sàng chỉ nên dùng chế phẩm ở nồng độ ban đầu hoặc pha loãng tỷ lệ 1/2, 1/4 để thuốc vẫn duy trì hiệu lực với 3 loài VK.

Nhận xét của chúng tôi cũng tương tự với một số nghiên cứu của các tác giả [68], [78], [129], [130].

Lorenz C. và cs. (1988) sử dụng thuốc mỡ chứa ceri nitrat và SSD (Flammacerium) cho 47 trẻ em bỏng nhiệt độ 2 đến độ 3, diện tích cơ thể từ 5% đến 60%. Kết quả nghiên cứu cho thấy thuốc mỡ này tỏ ra vượt trội hơn về tác dụng điều trị tại chỗ về hiệu quả kháng khuẩn, có thể áp dụng cho cả BN nội trú và ngoại trú [68].

Herruzo-Cabrera R. và cs. (1992) đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tám loại cream: SSD 1%; nitrofurazone 0,2%; chlorhexidine 0,1%, 0,5% và

1%; Ceri nitrat 2,2%; povidone iodine 10%; và SSD 1% + Ceri nitrat 2,2% trên in vitro. Đánh giá nồng độ ức chế VK tối thiểu đối với *Ps. aeruginosa* và *S. aureus* thấy cream chlorhexidine 0,5% hoặc 1%, gel ceri nitrat 2,2% và cream SSD 1% kết hợp ceri nitrat 2,2% là các loại cream kháng khuẩn có hiệu quả ở độ pha loãng cao nhất. Cream chlorhexidine 0,5% và povidone iodine 10% có hoạt tính diệt khuẩn lớn hơn. Cream nitrofurazone 0,2% có khả năng thâm nhập cao trong màng bảo vệ vết thương bỏng so với cream chlorhexidine 0,5% và 1%. Các loại cream khác không có sự xâm nhập ở màng bảo vệ vết bỏng [78].

Nghiên cứu của Schuenck R. P. và cs. (2004) cho thấy SSD- Ceri nitrat có hiệu quả trong điều trị nhiễm khuẩn vết bỏng. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của SSD khi sử dụng đơn thuần hoặc kết hợp với ceri nitrat đối với *S. aureus* là 64 microg/mL, trong khi đó của riêng ceri nitrat là 2.048 microg/mL [129].

Silva-Dias A. (2015) nghiên cứu 48 mẫu bệnh phẩm nấm *Candida* trên in vitro và in vivo thấy ở nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) ceri nitrat làm giảm hoạt động trao đổi chất của *Candida* và tổn thương màng tế bào sau 3 giờ tiếp xúc. Hơn nữa, ceri nitrat còn ngăn chặn có hiệu quả sự hình thành biofilm trên in vitro và in vivo. Ở nồng độ cao hơn, ceri nitrat cũng có thể làm mất tổ chức và gần như loại bỏ biofilm được tạo ra do *Candida*. Do vậy, có thể ứng dụng ceri nitrat trên lâm sàng để ngăn ngừa sự nhiễm khuẩn liên quan đến biofilm [130].

Như vậy, nghiên cứu in vitro và xác định MIC cho thấy gel ceri nitrat có tác dụng kháng khuẩn, đặc biệt có tác dụng với trực khuẩn mủ xanh và tụ cầu vàng. Đây là hai loài VK đa kháng với kháng sinh, có vai trò quan trọng trong nhiễm khuẩn bệnh viện.

4.2.4. Tác dụng kháng khuẩn gel ceri nitrat trên vết bỏng thực nghiệm và trên lâm sàng

Ceri nitrat là một chất kháng khuẩn hiệu quả nhưng phụ thuộc vào pH, với tác dụng hiệu quả nhất ở các giá trị pH acid nhẹ. Các loại VK nhạy cảm nhất là các *Pseudomonas*, với sự ức chế phát triển ở ceri nitrat có nồng độ từ 0,001 đến 0,004 M; Các loài *Escherichia* và *Salmonella* cần nồng độ khoảng 0,005 M cho tác dụng kháng khuẩn, trong khi *S. aureus* cần gần gấp đôi nồng độ đó [65].

Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi trên vết bỏng thực nghiệm, ở ngày thứ 7 và ngày thứ 14, tỷ lệ vết thương bỏng không mọc VK ở nhóm ceri nitrat (50,0% và 86,7%) cao hơn so với nhóm SSD (20,0% và 55%) và nhóm chứng (5,0% và 45,0%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$. Khi điều trị bằng gel ceri nitrat 0,05 M, không có sự hiện diện của *S. aureus* và giảm đáng kể số lần mọc VK *P. aeruginosa*. Theo thời gian điều trị, số lượng VK/1 cm^2 ở các vết thương bỏng giảm dần ($p<0,001$). Ở ngày thứ 7, số lượng VK/1 cm^2 vết thương bỏng ở nhóm điều trị ceri nitrat ($89,67 \pm 22,63 \times 10^3$/1 cm^2) và SSD ($92,19 \pm 20,08 \times 10^3$/1 cm^2) không khác biệt ($p>0,05$) và ít hơn so với nhóm chứng ($157,63 \pm 59,02 \times 10^3$/1 cm^2). Ở ngày thứ 14, số lượng VK ở nhóm điều trị ceri nitrat ($35,00 \pm 8,16 \times 10^3$/1 cm^2) ít hơn so với nhóm SSD ($71,67 \pm 15,81 \times 10^3$/1 cm^2) và nhóm chứng ($88,64 \pm 17,33 \times 10^3$/1 cm^2), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,001$ (Bảng 3.13- 3.15).

Trên lâm sàng, chúng tôi thấy ở các vết bỏng chủ yếu gặp vi khuẩn *S. aureus* và *P. aeruginosa*. Sau 14 ngày điều trị, tỷ lệ vết thương bỏng độ III sâu điều trị ceri nitrat có VK *P. aeruginosa và S.aureus* (19,0% và 19,0%) ít hơn so với nhóm điều trị SSD (47,6% và 28,6%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$. Sau điều trị 7 ngày, tỷ lệ vết thương bỏng sâu điều trị ceri nitrat có VK *P. aeruginosa và S. aureus* (30,0% và 25,0%) không khác biệt so với nhóm điều trị SSD (25,0% và 25,0%), ($p>0,05$). Sau 7 ngày điều

trị ceri nitrat và SSD thấy số lượng VK/1 cm^2 vết bỏng độ III sâu tăng lên, sau 14 ngày lại giảm xuống, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Ở ngày thứ 7 và 14 sau điều trị, số lượng VK ở vùng đắp ceri nitrat không khác biệt so với vùng đắp SSD (p>0,05) (Bảng 3.21- 3.23). Đối với vết thương bỏng sâu, sau 7 ngày điều trị ceri nitrat và SSD thấy số lượng VK trên 1 cm^2 vết bỏng sâu giảm xuống, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05) (Bảng 3.29- 3.31).

Kết quả này cũng tương tự kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả về tác dụng kháng khuẩn trên vết thương bỏng [81], [85], [94], [101],

Monafo W. W. và cs. (1976) sử dụng ceri nitrat điều trị tại chỗ vết thương bỏng cho 60 BN thấy tỷ lệ *P. aeruginosa* ở vết thương bỏng giảm và không có trường hợp nào nhiễm nấm. Phân tích dữ liệu chi tiết về VK học thấy rằng, trái ngược với các kết quả trước đây khi sử dụng muối nitrat hoặc SSD, các loài VK gram âm chiếm ưu thế, thì khi sử dụng ceri nitrat VK có xu hướng chủ yếu là gram dương. Do đó, một số BN đã được điều trị đồng thời bằng ceri nitrat và SSD; điều này dẫn đến việc ức chế sự phát triển của VK tại vết thương bỏng, thậm chí còn hiệu quả hơn so với những kết quả quan sát trước đây khi chỉ điều trị bằng ceri nitrat hoặc muối bạc đơn thuần. Kết quả điều trị tại chỗ tốt cũng làm giảm tỷ lệ tử vong. Không có độc tính nào liên quan đến việc sử dụng ceri nitrat. Về cơ bản, không có sự hấp phụ của ceri nitrat khi bôi tại chỗ. Sử dụng ceri nitrat đã làm giảm gần 50% tỷ lệ tử vong so với dự kiến. Các tác giả cho rằng ceri nitrat là một chất khử khuẩn tại chỗ đầy hứa hẹn để điều trị bỏng, đặc biệt là khi sử dụng kết hợp với SSD [81].

Boeckx W. và cs. (1985) sử dụng 0,05% chlorhexidine để tắm vết thương bỏng hoặc bôi cream SSD- Ceri nitrat thấy cream SSD- Ceri nitrat làm giảm đáng kể mức độ nhiễm *P. aeruginosa* trên vết bỏng của BN bị bỏng >15% diện tích cơ thể. Lớp vảy kết dính được tạo ra khi điều trị với SSD-Ceri nitrat là một lớp bọc vết thương thỏa đáng cho đến khi có thể tiến hành cắt bỏ hoại tử [85].

Lansdown A. B. và cs. (2003) ghi nhận điều trị bằng Cerium flammazine (Biệt dược chứa Ceri nitrat – SSD) ở BN bỏng nặng đã góp phần giảm tử vong, giảm nguy cơ nhiễm khuẩn, đặc biệt giảm tỷ lệ nhiễm trực khuẩn mủ xanh và tụ cầu vàng [101]. Qian L. W. và cs. (2020) nghiên cứu trên động vật thực nghiệm thấy không có sự khác biệt đáng kể về số lượng VK (CFU) giữa các nhóm giả bỏng, bỏng + nước và bỏng + Ceri nitrat ở ngày thứ 1 sau bỏng. Tuy nhiên, ở ngày thứ 7 sau bỏng, VK ở vùng da bị bỏng đã tăng lên rất nhiều (3,23 log CFU ở nhóm giả bỏng và 9,23 log CFU ở nhóm bỏng + nước, $p<0,0001$). Điều trị bằng ceri nitrat hạn chế sự phát triển của VK: 5,9 log CFU/gram mô so với 9,23 log CFU ($p<0,01$, so với bỏng + nước). Định lượng PCR đơn mồi xác định tổng số bản sao 16S rDNA của VK (tổng số VK sống và chết) cho thấy giảm tải lượng VK trên da ở nhóm điều trị ceri nitrat [94].

Như vậy, sử dụng ceri nitrat trong điều trị tổn thương bỏng cho thấy kết quả khả quan, làm giảm đáng kể số lượng VK/1 cm^2 bề mặt tổn thương bỏng.

4.3. TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ CỦA GEL CERI NITRAT TRÊN VẾT THƯƠNG BỎNG THỰC NGHIỆM VÀ TRÊN LÂM SÀNG

4.3.1. Tác dụng chống viêm, chống phù nề của ceri nitrat

Giai đoạn viêm cấp khởi đầu ngay sau khi bị bỏng với các đáp ứng tuần hoàn và hệ đông máu, đáp ứng tế bào và thể dịch. Tùy theo diện tích và độ sâu, giai đoạn viêm cấp có thể kéo dài 3- 7 ngày hoặc hơn phụ thuộc vào phác đồ điều trị và sức đề kháng của BN. Hiện tượng xung huyết, giãn mạch, thoát dịch qua thành mạch được thể hiện với 5 triệu chứng lâm sàng: sưng, nóng, đỏ, đau và kèm theo triệu chứng của rối loạn chức năng. Đây là những phản ứng có lợi cho cho cơ thể nhưng đáp ứng quá mức sẽ làm chậm quá trình liền vết thương, gây ra ứ trệ tuần hoàn đặc biệt là vi tuần hoàn. Dẫn đến thiếu oxy mô tế bào, gây rối loạn chuyển hóa tế bào ở vùng tổn thương và vùng lân cận. Kích thích giải phóng ra các chất trung gian hóa học làm giãn mạch và tăng

tính thấm thành mạch, dẫn đến vết thương bỏng phù nề và xung huyết mạnh hơn. Trong dịch phù bỏng còn chứa các chất gây cảm giác đau như kalium, histamine, bradykinin, prostaglandin... chúng cảm ứng hoặc kích hoạt sợi thần kinh xúc giác gây nên cảm giác đau cho BN. Phù viêm quá mức sẽ gây chèn ép các thụ thể thần kinh cũng góp phần gây đau sau bỏng. Vì vậy, việc ngăn chặn đáp ứng viêm quá mức tại vùng tổn thương bỏng sẽ tạo ra sự cân bằng ổn định tại vết bỏng, làm giảm đau tại chỗ, tạo điều kiện tốt cho quá trình sinh học liền vết thương. Tổn thương nhiệt trên 20% diện tích cơ thể dẫn đến thoát mạch toàn thân và gây phù nề [89], [90], [99].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi trên vết bỏng thực nghiệm cho thấy sau 5 ngày điều trị ceri nitrat, vết thương bỏng tiết dịch mức độ ít. Thuốc tạo một lớp vảy khô dày kết hợp một ít giả mạc trên bề mặt, da xung quanh bình thường, có biểu mô hoá và co kéo nhẹ từ bờ mép. Đối với nhóm điều trị bằng SSD: vết thương tiết dịch mức độ vừa. Kết hợp một ít giả mạc trên bề mặt, da xung quanh hơi nề nhẹ, có biểu mô hoá và co kéo nhẹ từ bờ mép. Sau 15 ngày điều trị ceri nitrat, nền vết thương khô, sạch, có một lớp màng mỏng của thuốc khô, biểu mô hoá rõ, vết thương cũng thu nhỏ dần. So với nhóm chứng (sử dụng nước muối sinh lý) và nhóm điều trị bằng SSD, nhóm điều trị bằng ceri nitrat cho kết quả tốt hơn (Bảng 3.10). Nghiên cứu trên lâm sàng cho thấy đối với các vết thương bỏng độ III sâu vùng được đắp ceri nitrat có thời gian giảm phù nề và giảm tiết dịch nhanh hơn trên vùng được đắp SSD. Đối với các vết thương bỏng sâu: điều trị bằng ceri nitrat có kết quả giảm phù nề, giảm tiết dịch tốt hơn so với những BN được điều trị bằng SSD (Bảng 3.19, 3.27).

Hiệu quả điều trị tổn thương bỏng bằng ceri nitrat cũng đã được ghi nhận ở một số các nghiên cứu khác [83], [89], [90], [99].

Ross D. A. và cs. (1993) thử nghiệm tác dụng điều trị vết thương bỏng của chế phẩm Flammacerium (SSD- Ceri nitrat) cho 20 BN được cho là không phù hợp để phẫu thuật thấy không có các đợt viêm mô tế bào hoặc

nhiễm khuẩn huyết. Flammacerium được ghi nhận là tạo ra một lớp màng bám dính, dễ cắt bỏ và tiếp nhận tốt các mảnh ghép da [83].

Theo Eski M. và cs. (2001), ceri nitrat có tác dụng làm cố định LPC ngăn không hấp thu vào máu gây nhiễm độc. LPC là chất gây hoạt hóa bạch cầu. Nghiên cứu trên thực nghiệm các tác giả nhận thấy ở vết thương bỏng điều trị bằng ceri nitrat, số lượng bạch cầu tới ổ viêm, kết dính và di tản tới ổ viêm giảm hơn so với nhóm chứng. Hậu quả là giảm phù nề bỏng [99].

Kremer T. và cs. (2009) nghiên cứu thực nghiệm thấy sử dụng ceri nitrat điều trị ở động vật góp phần làm giảm phù nề bỏng. Điều này cũng có thể gây ra tương tự bằng cách truyền huyết tương bị bỏng từ chuột bị bỏng sang chuột khỏe mạnh. Nhóm chuột cho huyết thanh bị gây tổn thương nhiệt (nước sôi 100^{o}C, diện tích bỏng 30%, trong 12 giây) và được chia thành 4 phân nhóm: 1) Nhóm chuột cho số 1: Tắm nước muối sinh lý ở thời điểm 10 phút sau khi gây tổn thương bỏng; 2) Nhóm chuột cho số 2: Tắm ceri nitrat (0,05 M với nước muối sinh lý trong 5 phút) ở thời điểm 10 phút sau khi gây tổn thương bỏng; 3) Nhóm chuột cho số 3: Tắm ceri nitrat (0,05 M với nước muối sinh lý trong 5 phút) ở thời điểm 120 phút sau khi gây tổn thương bỏng; 4) Nhóm chuột cho số 4 (giả bỏng: tắm bằng nước 37 độ C, diện tích 30%, trong 12 giây): Tắm nước muối sinh lý ở thời điểm 10 phút sau khi giả gây bỏng. Huyết tương của các nhóm chuột cho huyết thanh được lấy sau 4 giờ gây tổn thương nhiệt và truyền cho nhóm chuột nghiên cứu (khỏe mạnh). Kính hiển vi nội soi được đặt ở tiểu tĩnh mạch mạc treo tràng và theo dõi sự thoát mạch của albumin ở các thời điểm 0 phút, 60 phút và 120 phút. Đánh giá phù bằng lượng albumin thoát mạch, đánh giá độ dính của bạch cầu (tế bào/ mm^{2}) và các thông số vi huyết động cho thấy tình trạng thoát mạch tăng sau khi truyền huyết tương của chuột bị bỏng sau 120 phút. Tình trạng phù nề thấp hơn đáng kể ở nhóm chuột được truyền huyết tương giả bỏng. Nhóm

chuột được truyền huyết tương của chuột được tắm ceri nitrat tại chỗ sau 10 phút và 120 phút có giảm sự thoát albumin xuống mức cơ sở. Số lượng bạch cầu kết dính tăng nhẹ ở tất cả các nhóm. Bạch cầu có xu hướng giảm ở nhóm tắm ceri nitrat. Các tác giả cho rằng truyền huyết tương của chuột bị bỏng gây ra tình trạng phù nề ở chuột khỏe mạnh. Tắm ceri nitrat sau 10 phút và 120 phút làm giảm nồng độ chất trung gian hóa học (mediator) ở những chuột bị bỏng, vì vậy, truyền huyết tương của chuột bị bỏng được tắm ceri nitrat không gây ra sốc bỏng nữa [89].

Hernekamp J. F. và cs. (2012) đánh giá tác dụng chống thoát albumin, gây phù nề trên động vật thực nghiệm được truyền huyết thanh của chuột bị bỏng như mô hình của Kremer T. và cs. (2009) thấy liệu pháp điều trị tại chỗ cho động vật bị bỏng (chuột cho huyết thanh bỏng) bằng ceri nitrat và liệu pháp chống oxy hóa toàn thân với vitamin C liều cao đã làm giảm đáng kể thoát mạch huyết tương ở chuột nhận huyết thanh. Sự tương tác, kết dính giữa bạch cầu- nội mô (Leukocyte-endothelial interactions) không bị ảnh hưởng trong cả hai trường hợp. Các tác giả cho rằng liệu pháp chống oxy hóa với vitamin C liều cao và điều trị tại chỗ bằng ceri nitrat đều làm giảm sự rò rỉ mao mạch hệ thống ở động vật nhận huyết thanh ở động vật bị bỏng. Do đó, tác dụng tích cực này nên được ứng dụng sớm trên lâm sàng [90].

Ở Việt Nam, Nguyễn Ngọc Tuấn và cs. (2019) sử dụng dung dịch ceri nitrat 0,04M trên 33 BN điều trị di chứng sau bỏng có vết thương khâu kín (16 BN có vết thương khâu kín sau cắt sẹo và 14 BN có vết khâu kín sau lấy da dày toàn lớp), so sánh với dung dịch Betadin 3% thấy dung dịch ceri nitrat có tác dụng chống viêm. Vùng nghiên cứu có tình trạng viêm nề giảm rõ rệt so với vùng đối chứng (mạnh hơn Betadin 3%). Dung dịch ceri nitrat có tác dụng ngăn ngừa nhiễm khuẩn (tỷ lệ cấy khuẩn âm tính cao, làm giảm số lần nhiễm khuẩn *P. aerruginosa*). Vết thương vùng nghiên cứu ít dịch mủ, không

gặp biến chứng nhiễm trùng vết mổ. Tác dụng này tương đương với dung dịch Betadin 3%. Dung dịch ceri nitrat tương đối an toàn. Không gặp các biểu hiện rối loạn toàn thân hoặc tại chỗ liên quan tới sử dụng thuốc [88].

Như vậy, ceri nitrat là thuốc có tác dụng chống viêm, do đó, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình liền vết thương. Sở dĩ có được tác dụng này là do Ceri nitrat có tác dụng làm giảm thoát albumin vào lòng mạch và chống phù nề.

4.3.2. Tác dụng làm khô hoại tử của ceri nitrat

Ở vết bỏng hoại tử ướt, quá trình viêm, nhiễm khuẩn thường nặng, các chất độc hình thành do hoại tử, do đáp ứng viêm dễ hấp thu vào máu gây nhiễm độc nặng nề. Liền vết bỏng hoại tử ướt thường chậm hơn, dễ bị hoại tử thứ phát chuyển độ sâu. Ranh giới hoại tử ướt với mô lành không rõ ràng nên nhiễm khuẩn dễ phát triển lan tràn. Hoại tử ướt là môi trường thuận lợi cho VK phát triển, nhất là khi quá trình viêm mủ xảy ra. Hoại tử khô thành cả khối rụng ra tạo thành mô hạt. Hoại tử khô có thể chuyển thành hoại tử ướt hoặc ngược lại. Tại tổn thương bỏng sâu, mô tế bào tan rã hoại tử, chất độc hình thành được tái hấp thu vào máu: histamin, leucotoxin, các proteinase của da, các men tiêu huỷ protein được giải thoát từ các nguyên sinh chất của tế bào bị huỷ (asparatransferase, alaminotransferase, lactate-deshydrogenase...) và của lysosom (phosphatase acid, desoxyribonuclease acid, Catepsin...) [8].

Nghiên cứu mô bệnh học ở vết bỏng trên động vật thực nghiệm cho thấy ở nhóm điều trị ceri nitrat, hiện tượng phù giảm rõ rệt, hiện tượng này diễn ra tốt hơn so với nhóm SSD, đặc biệt là sau 14 ngày điều trị. Trên vết thương bỏng ở người, gel ceri nitrat có tác dụng làm khô hoại tử. Sau 3-6 ngày đắp thuốc, hoại tử độ III sâu hoặc độ IV dần chuyển thành khô rõ, đi cùng với quá trình này là tình trạng viêm nề, nhiễm khuẩn giảm. Trong khi vết bỏng điều trị bằng SSD hoại tử tiến triển ướt tới viêm mủ và tan rữa, rụng, vết bỏng được điều trị bằng gel ceri nitrat sớm se khô, giảm dịch tiết, dịch mủ. Chuyển hoại tử

ướt thành hoại tử khô tạo môi trường không thuận lợi cho VK phát triển, tạo điều kiện để cắt hoại tử sớm diễn ra thuận lợi. Điều này rất có ý nghĩa, đặc biệt khi BN bỏng sâu diện rộng, cần có thời gian hồi sức nâng đỡ cơ thể, chuẩn bị phẫu thuật. Nghiên cứu của chúng tôi mới tiến hành ở diện tích nhỏ. Nhưng kết quả này mở ra một hướng đi mới, là cơ sở để chúng tôi áp dụng chế phẩm gel ceri nitrat 2,2% điều trị bỏng sâu diện rộng, làm tăng khả năng cứu chữa nhóm BN này.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với những nghiên cứu khác về ceri nitrat. Ceri nitrat có tác dụng làm khô hoại tử, đặc biệt làm đông vón, biến tính độc tố bỏng (burn toxin, bản chất là phức hợp lipo protein complex - LPC).

Eski M. và cs. (2012) đưa ra giả thuyết rằng điều trị ceri nitrat sẽ ngăn chặn sự chuyển đổi vùng ứ trệ thành hoại tử mô bằng cách giảm hoạt hóa bạch cầu và giảm sự thoát mạch của các đại phân tử và giảm phù nề do bỏng. Nghiên cứu trên 54 con chuột, các tác giả chia ngẫu nhiên thành hai nhóm: nhóm đối chứng và nhóm điều trị ceri nitrat. Nhóm chuột điều trị ceri nitrat được tắm ceri nitrat 0,04M ở thời điểm 30 phút sau khi bị bỏng, còn chuột ở nhóm đối chứng được tắm nước muối 0,09%. Có 9 chuột ở mỗi nhóm được đánh giá sự ứ trệ bằng xạ hình (99 m) Tc-sestamibi vào ngày thứ 3 và thứ 7 sau khi gây tổn thương bỏng; và 9 chuột còn lại được kiểm tra mô học vào ngày thứ 21 sau khi có kết quả xạ hình. Kết quả nghiên cứu cho thấy ở nhóm điều trị ceri nitrat, tỷ lệ hấp thu thuốc xạ hình cao hơn ở ngày thứ 3 và thứ 7 sau khi gây bỏng so với nhóm đối chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$. Ở nhóm điều trị bằng tắm dụng dịch ceri nitrat, tỷ lệ biểu mô hóa ở vùng ứ máu cao hơn so với nhóm chứng, sự khác biệt cũng có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Các kết quả này chứng tỏ rằng điều trị ceri nitrat ngăn ngừa sự tiến triển của hoại tử mô ở vùng ứ máu. Nghiên cứu này làm sáng tỏ thêm những tác động không giải thích được của điều trị ceri nitrat đối với bỏng (Hình 4.1) [6].

Ngày thứ 3 **Ngày thứ 7**

Hình 4.1. Hình ảnh y học hạt nhân của chuột
ở ngày thứ 3 và ngày thứ 7 sau khi gây bỏng.

(A) Nhóm điều trị ceri nitrat: Khu vực ứ trệ có chất phóng xạ nên thấy rõ ranh giới ứ trệ rõ ràng. (B) Nhóm đối chứng: Không có sự khác biệt đáng kể giữa vùng ứ trệ và vùng hoại tử.

** Nguồn: Theo Eski M. và cs. (2012) [6].*

Theo Deveci M. và cs., ceri nitrat có tác dụng làm khô hoại tử, cố định LPC ngăn không hấp thu vào máu gây nhiễm độc. Lớp hoại tử khô này đóng vai trò như một màng sinh học bảo vệ vết thương. Hoại tử khô không thấm nước đã làm ngăn chặn sự xâm nhập của VK vào vết bỏng, làm giảm nhiễm khuẩn và cải thiện tình trạng bệnh. Thuốc chứa ceri làm cho hoại tử trở nên rắn chắc hơn và không thấm, tạo thuận lợi cho thay băng, cắt bỏ hoại tử sớm [96].

Như vậy, tác dụng làm khô hoại tử của ceri nitrat đem lại nhiều thuận lợi cho quá trình điều trị. Lớp hoại tử khô được hình thành dưới tác dụng của ceri nitrat đóng vai trò như một màng sinh học bảo vệ vết thương. Hoại tử trở lên rắn chắc hơn, khô và không thấm nước đã ngăn chặn được sự xâm nhập của VK vào vết bỏng, làm giảm nhiễm khuẩn và cải thiện được tình trạng bệnh.

4.3.3. Tác dụng tới miễn dịch của gel ceri nitrat

Nghiên cứu của chúng tôi trên thực nghiệm cho thấy về dấu hiệu toàn thân trên động vật thực nghiệm là không có biểu hiện mẩn ngứa, dị ứng; Sau gây bỏng 1 giờ, chuột tỉnh táo hoàn toàn. Trong ngày đầu gây bỏng: chuột

mệt, ít đi lại, ăn uống hoạt động kém hơn nhiều. Tình trạng trên giảm dần đến ngày thứ 5, thứ 6 chuột ăn uống đi lại hoạt động bình thường, lông mượt, hậu môn khô, phân thành khuôn, mắt trong, không có biểu hiện bất thường. Như vậy, mặc dù bị chấn thương nhiệt, nhưng chuột không bị phản ứng đáp ứng viêm quá mức [91], [93], [96].

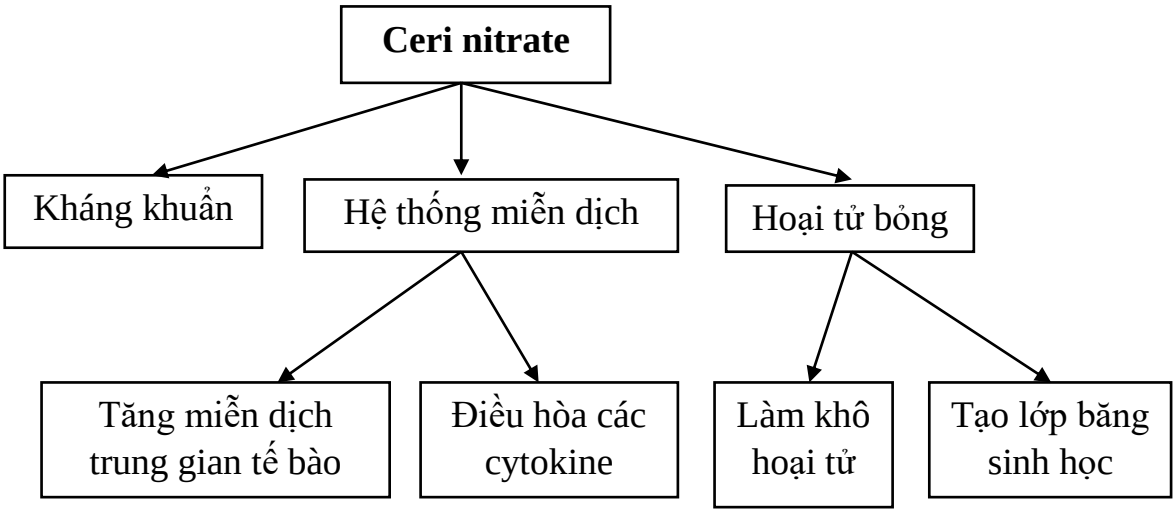
Peterson V. M. và cs. (1985) gây bỏng nhiệt trên chuột với diện tích bỏng sâu 20% và sau đó được điều trị bằng các loại cream kháng khuẩn tại chỗ để thay đổi quá trình ức chế miễn dịch sau bỏng. Các chất bôi ngoài da bao gồm ceri nitrat, SSD, mafenide, nitrat bạc và hỗn hợp SSD- Ceri nitrat. Ức chế miễn dịch qua trung gian tế bào được xác định trên in vivo bằng cách đo mức độ phù nề ở tai khi phản ứng với 2,4-dinitrofluorobenzene. Ức chế miễn dịch qua trung gian tế bào (đánh giá bằng phản ứng phù nề ở tai) khi chuột bị gây mẫn cảm ở ngày 14 sau khi bỏng không thấy xảy ra ở những con chuột được điều trị bằng ceri nitrat hoặc Ceri nitrat-SSD, nitrat bạc chỉ có hiệu quả ở mức độ vừa phải và mafenide hoặc SSD không có tác dụng khôi phục được sự ức chế miễn dịch qua trung gian tế bào. Như vậy, ceri nitrat tại chỗ có thể có tiềm năng như một chất điều hòa miễn dịch trong điều trị bỏng [91].

Fang Y. và cs. (1996) cho rằng ức chế miễn dịch qua trung gian tế bào và tỷ lệ sống sau bỏng có liên quan đến việc hấp thu độc tố bỏng. Các tác giả gây bỏng sâu cho chuột Wistar với diện tích 30%, sau đó cắt bỏ hoại tử sớm và băng ceri nitrat thấy ở ngày thứ 14 sau bỏng, cả hai nhóm cắt bỏ hoại tử sớm và băng ceri nitrat đều làm tăng tỷ lệ sống và tỷ lệ Th/Ts do bỏng nặng gây ra. Điều này cho thấy ở những ngày đầu sau bỏng, có thể điều trị ceri nitrat có thể thay thế việc cắt bỏ vết bỏng sớm để ngăn chặn sự ức chế miễn dịch qua trung gian tế bào trong trường hợp bỏng nặng [93]. Theo Deveci M. và cs. (2000), việc điều trị bằng tắm ceri nitrat ngăn ngừa sự gia tăng nồng độ TNF-α trong thời gian đầu sau bỏng nhiệt. Mặt khác, mức IL-6 cao làm giảm mức hoạt động của TNF- α. Vì vậy, tác giả giả định rằng IL-6 ức chế mức độ nghiêm trọng của phản ứng viêm trong thời kỳ đầu của bỏng nhiệt [96].

Nghiên cứu trên động vật thực nghiệm thấy thay đổi SLBC diễn biến nhanh chóng hơn so với nhóm điều trị bằng SSD, SLBC của nhóm điều trị ceri nitrat tăng chậm hơn ở thời điểm sau bỏng 7 ngày và giảm về bình thường nhanh sau 14 ngày gây bỏng. Tác dụng này của ceri nitrat có tốt hơn rõ so với điều trị bằng SSD, dưới tác dụng điều trị của SSD, SLBC vẫn tăng ở mức cao. Vấn đề tăng SLBC này có thể là do tình trạng nhiễm khuẩn được kiểm soát nhanh chóng khi điều trị bằng ceri nitrat hiệu quả hơn so với điều trị bằng SSD. Trong công thức bạch cầu cũng ủng hộ hiện tượng thay đổi SLBC là có liên quan đến khả năng chống nhiễm khuẩn của ceri nitrat, khi chủ yếu tăng bạch cầu là tăng bạch cầu đa nhân trung tính. Ở động vật gây bỏng thực nghiệm, SLTC sau thời điểm gây bỏng và kéo dài sau 14 ngày, hiện tượng tăng tiểu cầu này có một phần là do tổn thương bỏng, làm huy động tăng sản xuất tiểu cầu, thêm vào đó, dưới tác dụng của ceri nitrat cũng như SSD ít có ảnh hưởng đến biến đổi tiểu cầu, các thay đổi ở 2 nhóm này là tương đồng nhóm chỉ sử dụng nước muối sinh lý trong điều trị (Bảng 3.16).

Nghiên cứu SLBC ở bệnh nhân bỏng trên lâm sàng chúng tôi thấy có hiện tượng giảm có ý nghĩa SLBC sau điều trị bằng gel ceri nitrat (Bảng 3.24, 3.32). SLBC tăng ngay sau bỏng là do đáp ứng của cơ thể trước tác nhân bỏng, tổn thương da, mô xung quanh, tạo ra vùng viêm, hiện tượng huy động bạch cầu vào vùng viêm. Nhưng sau thời gian điều trị, hiện tượng viêm giảm, vùng tổn thương biểu mô hóa, liền tổn thương, nên giảm huy động bạch cầu đến vùng tổn thương, do vậy SLBC máu ngoại vi giảm đi đáng kể sau thời gian điều trị.

Như vậy, ceri nitrat có tác dụng kháng khuẩn, điều hòa hệ thống miễn dịch, chống viêm, chống phù nề, làm khô hoại tử bỏng, tạo lớp băng sinh học nên có hiệu quả cao trong điều trị tại chỗ vết thương bỏng. Các tác dụng của ceri nitrat trong điều trị vết thương bỏng có thể tóm tắt ở sơ đồ sau:



Biểu đồ 4. 1. Tác dụng của ceri nitrate.

4.3.4. Tính an toàn của gel ceri nitrat

Nghiên cứu trên lâm sàng, theo dõi cảm giác đau khi đắp thuốc chúng tôi nhận thấy: khi đắp thuốc lần đầu tiên, BN cảm giác đau xót nhẹ, nóng rát nhẹ, kéo dài 1-3 phút. Cảm giác này nhanh chóng qua đi. Ở lần đắp thuốc thứ 2, BN không còn thấy đau nhưng vẫn còn cảm giác nóng rát (nhẹ hơn). Những lần sau BN cảm thấy bình thường. Theo chúng tôi có thể cảm giác đau liên quan tới pH của gel có tính acid nhẹ (6,2 - 6,8). Cảm giác đau này khắc phục chỉ cần cho BN uống thuốc giảm đau nhóm Non-steroid trước khi thay băng.

Tiến hành nghiên cứu trên 41 BN: 21 BN bỏng độ III sâu diện tích nghiên cứu trung bình là 2,40% ± 0,78, 20 BN bỏng độ IV diện tích nghiên cứu trung bình là 2,20% ± 0,82, thời gian từ 07 tới 20 ngày, chúng tôi không gặp trường hợp nào có biểu hiện dị ứng, kích ứng tại chỗ tổn thương. Theo dõi toàn thân trong quá trình điều trị, chúng tôi cũng không gặp các biểu hiện dị ứng toàn thân, không gặp các rối loạn toàn thân hoặc cơ quan liên quan tới thuốc. Các chỉ số đánh giá chức năng gan, thận, tạo máu (như các xét nghiệm huyết học, sinh hóa) đều trong giới hạn cho phép.

Điều này cũng phù hợp với những nghiên cứu của chúng tôi trước khi tiến hành nghiên cứu lâm sàng. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng bằng đường uống gel ceri nitrat 2,2% với liều 1000mg/kg/24giờ, sau 28 ngày cho thấy: trọng lượng chuột và trạng thái toàn thân, các chỉ tiêu xét nghiệm sinh hóa, huyết học, mô bệnh học đánh giá chức năng tạo máu, gan, thận, lách không bị ảnh hưởng. Đánh giá độ kích ứng da của gel ceri nitrat 2,2% trên da lành thỏ theo hướng dẫn của OECD cho thấy thuốc không gây kích ứng, chỉ số kích ứng bằng không.

Ramesh A. và cs. (2014) nghiên cứu độc tính bán cấp của cerium oxide (CeO_2) trên chuột với liều 200mg/kg trọng lượng chuột đường uống. Hạt nano oxide ceri được coi là một trong những vật liệu nano quan tâm nhất do có thể được sử dụng như một tác nhân chống oxy hóa, có tiềm năng to lớn trong điều trị bệnh liên quan tới oxy hóa do stress và do viêm. Kết quả nghiên cứu cho thấy không thấy chuột chết, không thấy các biểu hiện tổn thương mô bệnh học tạng gan, lách, thận cũng như các biểu hiện tổn thương khác trên lâm sàng, cận lâm sàng [116].

Trên lâm sàng tổn thương bỏng thực nghiệm được điều trị bằng gel ceri nitrat nhận thấy thuốc có tính an toàn. Theo dõi toàn thân chuột không thấy biểu diện dị ứng. Theo dõi tại chỗ trong quá trình thay băng không thấy biểu hiện dị ứng, kích ứng tại vùng tổn thương. Sau hơn 4 tuần điều trị, không thấy các rối loạn chức năng gan, thận, biểu hiện trên xét nhiệm SGOT, SGPT, ure, creatin không rối loạn. Trên tiêu bản mô học của gan và thận khi kết thúc nghiên cứu, hình ảnh cấu trúc bình thường.

Số lượng bạch cầu trước và sau điều trị có sự khác biệt với $p<0,05$. Sau một tuần điều trị, số lượng bạch cầu tăng, tương ứng với tổn thương tại thời điểm này đang viêm mủ, hoại tử đang quá trình tan rã và rụng. Tới ngày thứ thứ 32, số lượng bạch cầu trở về bình thường, tổn thương bỏng đã khỏi cơ

bản, phản ứng của cơ thể đã trở về mức bình thường. Số lượng hồng cầu, tiểu cầu, hàm lượng hemoglobin thay đổi không có ý nghĩa thống kê với p>0,05.

Các nghiên cứu đều ghi nhận tính an toàn của chế phẩm ceri nitrat trên thực nghiệm và lâm sàng. Monafo W.W. và cs. (1976) và Helvig E. I. và cs. (1979) đã xác nhận ceri nitrat không được phát hiện hoặc chỉ xuất hiện ở nồng độ rất thấp (<10mcg/100ml) trong huyết thanh khi được sử dụng trên lâm sàng [80], [81].

Hirakawa K. công bố kiểm tra mức ceri nitrat và silver ở nội tạng BN sau 3 tháng điều trị với SSD- Ceri nitrat. Tìm thấy silver ở thận, gan BN tử vong nhưng không thấy dù dạng vết cerium ở gan, thận [131].

Một trong những yếu tố thuận lợi để ceri nitrat được chấp nhận sử dụng rộng rãi trên lâm sàng chính là tính an toàn. Ceri nitrat có khả năng hấp thu kém vào cơ thể. Ceri nitrat không có khả năng thấm qua màng tế bào còn nguyên vẹn của động vật có vú (Evans C. H. 1983) [74]. Ceri nitrat có độc tính rất thấp, LD_{50} ở chuột cống trắng theo đường uống là 4200mg/kg trọng lượng chuột [65].

Mặt khác, Cerium (và lanthanum nói chung) có một tác dụng độc đáo là ức chế thoái biến của tế bào Mast, ức chế bài tiết histamin từ tế bào mast và tế bào ái kiềm, ức chế bơm ATPase của màng tế bào. Tác dụng này cũng gặp ở tế bào Langerhans ở da. Đây là cơ sở dùng ceri như thuốc điều trị tại chỗ bệnh eczema thể địa (ức chế tiết histamin), bệnh có rối loạn chức năng trình diện kháng nguyên của tế bào Langerhans và bài tiết histamin từ tế bào Mast (Gruner S. 1991, 1992) [76], [77]. Chính tác dụng này đã góp phần làm giảm quá trình viêm, giảm nguy cơ dị ứng khi dùng trên vết thương bỏng.

Như vậy, gel ceri nitrat 2,2% dùng trên lâm sàng để điều trị vết thương bỏng là tương đối an toàn, không gây dị ứng toàn thân và tại chỗ, không gây tổn thương đến những cơ quan quan trọng như cơ quan tạo máu, tuần hoàn, gan, thận…

4.3.5. Bước đầu đánh giá tác dụng của gel ceri nitrat trên lâm sàng

4.3.5.1. Tác dụng điều trị của gel ceri nitrat trên vết bỏng độ III sâu

Nghiên cứu trên lâm sàng thấy điều trị trên vết bỏng bằng ceri nitrat không gây ra cảm giác đau, nóng rát sau khi đắp thuốc, giảm phù nề hiệu quả ngay từ ngày thứ 4 và hết phù nề sau 6 ngày đắp thuốc. Dịch tiết vết bỏng giảm nhiều, chỉ còn thấm băng ít sau 6- 7 ngày đắp thuốc. Ceri nitrat cũng không gây ra dị ứng. Thời gian hoại tử chuyển khô ở vết thương bỏng độ III sâu đắp ceri nitrat là 2,62 ± 0,49 ngày. Vết thương bỏng độ III sâu đắp SSD không chuyển hoại tử khô. Thời gian rụng/tan rữa và rụng sạch hoại tử ở vết thương bỏng độ III sâu được đắp ceri nitrat (6,81 ± 0,81 ngày và 10,52 ± 0,81 ngày) không khác biệt so với nhóm SSD (7,00 ± 0,70 ngày và 10,76 ± 1,13 ngày), ($p>0,05$). Thời gian khỏi hoàn toàn ở vết thương bỏng độ III sâu đắp ceri nitrat (20,24 ± 1,26 ngày) ngắn hơn so với vết thương bỏng độ III sâu đắp SSD (21,19 ± 0,92 ngày), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,01$.

Kết quả này cũng tương tự như một số nghiên cứu về tác dụng gây hoại tử khô, rụng hoại tử, biểu mô hóa và khỏi hoàn toàn ở vết thương bỏng độ III sâu của ceri nitrat [6], [132], [133].

Oen I. M. và cs. (2012) nghiên cứu ngẫu nhiên 154 BN bỏng mặt cấp tính, được chia thành 02 nhóm (nhóm SSD- Ceri nitrat: 78 BN và nhóm SSD: 76 BN) tương đương giới, tuổi, diện tích bỏng và nguyên nhân bỏng. Trong quá trình điều trị, 04 BN tử vong, còn lại 77 BN điều trị bằng SSD- Ceri nitrat và 73 BN điều trị bằng SSD. Kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu quả của hai phương pháp điều trị không có sự khác biệt. Số ca phải phẫu thuật ở nhóm SSD- CeN là 13 BN (16,9%) so với 15 BN (20,5%) ở nhóm SSD ($p= 0,57$; OR: 0,8; KTC 95%: 0,3- 1,8). Thời gian liền vết thương trung bình là 11,0 ngày ở nhóm SSD- Ceri nitrat (tứ phân: 7,0- 15,0 ngày) và 9,0 ngày đối với nhóm SSD (tứ phân: 5,0- 15,75 ngày) ($p= 0,17$). Không có sự khác biệt đáng

kể về kết quả chức năng và thẩm mỹ ở các thời điểm 3, 6 và 12 tháng sau bỏng của cả hai phương pháp điều trị. Các tác giả cho rằng phần lớn các trường hợp bỏng mặt không cần phẫu thuật và điều trị bằng SSD- Ceri nitrat và SSD đều có kết quả khả quan, cả về thẩm mỹ và chức năng [132].

De Graaf E. và cs. (2017) hồi cứu các BN bỏng trẻ em bị bỏng nước sôi có diện tích bỏng dưới 10% được điều trị bằng băng hydrofiber hoặc SSD và SSD- Ceri nitrat thấy thời gian liền vết thương có sự khác biệt giữa hai nhóm (HR = 1,46, KTC 95%: 1,17- 1,82). Thời gian liền vết thương bỏng ở những BN được điều trị bằng SSD- Ceri nitrat (13 ngày) ngắn hơn nhóm BN được điều trị bằng hydrofiber (15 ngày) và SSD (16 ngày), ($p<0,01$). Thời gian nằm viện trung bình của nhóm BN điều trị bằng hydrofiber (3 ngày) ít hơn so với điều trị bằng SSD (10 ngày) và SSD- Ceri nitrat (7 ngày), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,01$. Nhưng thời gian điều trị ngoại trú của nhóm hydrofiber (12 ngày) dài hơn so với nhóm SSD (6 ngày) và SSD- Ceri nitrat (4 ngày), $p<0,01$. Các tác giả cho rằng thời gian liền vết thương ngắn hơn ở nhóm SSD- Ceri nitrat chứng tỏ SSD- Ceri nitrat đầy hứa hẹn và cần được nghiên cứu thêm [133].

4.3.5.2. Tác dụng điều trị của gel ceri nitrat trên vết thương bỏng sâu

Các nghiên cứu cho rằng hoại tử của vết thương bỏng sâu được sử dụng ceri nitrat, thuốc sẽ bám chắc vào hoại tử tạo nên một lớp màng khô che phủ tạm thời cho vết thương, dễ bóc tách tạo thuận lợi cho can thiệp phẫu thuật [98], [104], [105].

Boeckx W. (1992) điều trị 22 BN bằng SSD- Ceri nitrat với diện tích bỏng 21,7% thấy ceri nitrat đã gây calci hóa hoại tử bề mặt vết thương bỏng (trong khi lớp dưới của chân bì bình thường- thông qua xét nghiệm mô bệnh học nhuộm Van Gieson và nhuộm Elstica). Ceri nitrat đã cố định pyrophosphate vô cơ kết tủa với nhau. Tại đây các collagen và elastin bị phá hủy. Do đó, nó tác dụng như một lớp vỏ mỏng, tạo thành một barrier bảo vệ

cho collagen khỏi tác động của môi trường tiếp xúc và của vi sinh vật, có tác dụng phòng ngừa VK xâm nhập. Các mẫu sinh thiết 10 tuần sau bỏng vẫn thấy lớp hoại tử nguyên vẹn của ceri. Ceri không tạo được các tác dụng này khi bỏng độ III sâu, lớp màng đáy còn nguyên vẹn. Không thấy hiện tượng nhiễm độc ceri. Tác giả cũng không nhận thấy hình ảnh này ở nhóm điều trị SSD (với các biểu hiện như sợi elastin bề mặt chân bì bình thường, thâm nhiễm nhiều bạch cầu đa nhân và đại thực bào, tăng sinh nguyên bào sợi, tăng tổng hợp collagen...) [98].

Qua nghiên cứu chúng tôi thấy thời gian hoại tử chuyển khô ở vết thương bỏng sâu đắp ceri nitrat là 2,60 ± 0,50 ngày. Vết thương bỏng sâu đắp SSD không chuyển hoại tử khô. Thời gian phẫu thuật cắt hoại tử, ghép da ở vết thương bỏng sâu được đắp ceri nitrat và đắp SSD là tương đương nhau (6,25 ± 0,79 ngày). Thời gian bám sống của mảnh da ghép ở vết thương bỏng sâu được đắp ceri nitrat (7,10 ± 0,55 ngày) ngắn hơn so với vùng đắp SSD (7,70 ± 0,57 ngày), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,01$. Kết quả phẫu thuật sau đắp SSD cũng như ceri nitrat đều cho kết quả tương đương nhau (tốt là 90% và khá là 10%) (Bảng 3.28).

Kết quả này cũng tương tự một số nghiên cứu của các tác giả khác [81], [87], [100], [102], [103]. Monafo W. W. và cs. (1976) sử dụng cream SSD-Ceri nitrat để điều trị tại chỗ vết thương bỏng thấy việc bổ sung 2,2% muối ceri vào SSD đã tạo ra một loại vảy tương đối cứng, màu vàng, giống da, có khả năng chống nhiễm khuẩn và bám dính lâu dài vào vết thương bỏng. Điều này cho phép phẫu thuật cắt bỏ hoại tử muộn và ghép da ngay, do đó làm giảm kích thước vết thương hở và tỷ lệ nhiễm khuẩn nặng ở vết thương bỏng [81].

Kistler D. và cs. (1990) nghiên cứu trên động vật gây bỏng thực nghiệm thấy tỷ lệ sống ở nhóm động vật được ghép da là 10%, nhưng khi điều trị sớm bằng dung dịch ceri nitrat 0,04 M thì tỷ lệ sống tăng lên 74%. Các tác giả cho rằng ceri nitrat đã tạo màng bảo vệ vết thương bỏng thực nghiệm, ngăn ngừa

ảnh hưởng của độc tố bỏng. Trong quá trình thực nghiệm chưa phát hiện thấy tác dụng không mong muốn của thuốc [111].

Nghiên cứu của Vehmeyer-Heeman M. và cs (2006) trên 2 nhóm BN bỏng sâu được ghép da sau cắt hoại tử sớm ≤5 ngày và ghép da sau cắt hoại tử muộn >5 ngày, được điều trị trước phẫu thuật bằng SSD-Ceri nitrat thấy nhóm BN cắt hoại tử sớm có thời gian nằm viện trung bình 54,0 ± 22,0 ngày với số lần phẫu thuật trung bình là 5,5 ± 1,3 lần, khoảng thời gian giữa các lần phẫu thuật là 7,9 ± 4,1 ngày. Nhóm BN cắt hoại tử muộn có thời gian nằm viện trung bình là 71 ± 23,8 ngày, số lần phẫu thuật trung bình là 5,0 ± 1,2 ngày) và khoảng thời gian giữa các lần phẫu thuật là 11,4 ± 6,8 ngày. Tình trạng nhiễm khuẩn vùng ghép da xảy ra trên 17/37 BN (46%). Trong số 17 BN này, có 8 BN thuộc nhóm cắt hoại tử sớm (44,5%) và 9 BN thuộc nhóm cắt hoại tử muộn (47,5%). Ở vùng da ghép thấy có cả VK Gram âm và Gram dương, chiếm tỷ lệ cao nhất là *P. aeruginosa* (46%), các VK khác là *S. aureus* (25%), *S. epidermidis* (4%) và *E. coli* (4%) và có 02 trường hợp nhiễm nấm *Candida albicans* (8,5%). Tình trạng nhiễm khuẩn và loại VK giữa 2 nhóm không có sự khác biệt. Các tác giả cho rằng SSD- Ceri nitrat cho phép phẫu thuật trì hoãn mà không làm tăng tình trạng nhiễm khuẩn vùng da ghép và không có ảnh hưởng nghiêm trọng trong thời gian dài. Đánh giá sau phẫu thuật thấy không có sự khác biệt về tình trạng sẹo giữa hai nhóm cắt hoại tử sớm và cắt hoại tử muộn được điều trị trước phẫu thuật bằng SSD- Ceri nitrat (p= 0,46), tình trạng sẹo ở nhóm BN có vùng ghép da nhiễm khuẩn cũng không có sự khác biệt giữa hai nhóm cắt hoại tử sớm và cắt hoại tử muộn (p = 0,932) [87].

Hadjiiski O. G. và cs. (1999) cho rằng điều trị tại chỗ có hiệu quả là rất quan trọng trong việc ngăn ngừa nhiễm khuẩn vết thương và đảm bảo ghép da thành công. Các tác giả đã so sánh tác dụng điều trị tại chỗ vết thương bỏng của 4 loại thuốc [deflamol (20 BN), polyvidone-iodine (21 BN), flammazine

(SSD) (28 BN) và flammacerium (SSD-Ceri nitrat) (05 BN)] thấy flammazine và flammacerium có kết quả tốt và rất tốt nhiều hơn so với nhóm điều trị deflamol và polyvidone-iodine. Ngược lại, 70% BN ở nhóm deflamol và 52,4% BN ở nhóm polyvidone-iodine không đạt yêu cầu. Các tác giả chưa thấy sự khác biệt đáng kể nào về tác dụng kháng khuẩn giữa hai nhóm flammazine và flammacerium. Tuy nhiên, việc cắt bỏ màng bảo vệ vết bỏng do flammacerium tạo thành dễ dàng hơn và do đó có cơ hội để trì hoãn phẫu thuật trong một tháng hoặc hơn [100].

De Gracia C. G. (2001) nghiên cứu 60 BN bỏng vừa và nặng điều trị ngẫu nhiên SSD (n = 30) hoặc (SSD- Ceri nitrat) (n = 30) thấy có bốn trường hợp tử vong ở nhóm SSD và một trường hợp ở nhóm SSD- Ceri nitrat; nhiều BN có mức độ nguy cơ cao hơn sống sót ở nhóm SSD- Ceri nitrat. Nhiễm khuẩn vết thương không có sự khác biệt đáng kể giữa hai nhóm. Tỷ lệ biểu mô hóa các vết bỏng độ III sâu nhanh hơn 8 ngày ở nhóm SSD-Ceri nitrat. Lớp hoại tử khô của vết bỏng điều trị bằng SSD-Ceri nitrat cho phép cắt bỏ sớm và lớp mô nền ghép da cũng tốt hơn nên thời gian ghép da sớm hơn 11 ngày so với nhóm SSD (p= 0,03). Điều này dẫn đến thời gian nằm viện ngắn hơn đáng kể đối với những người ở nhóm SSD- Ceri nitrat so với nhóm SSD (23,3 so với 30,7 ngày; p= 0,03), do vậy tiết kiệm được chi phí điều trị. Tỷ lệ đau nhói thoáng qua ở vết bỏng sử dụng SSD- Ceri nitrat cao hơn, nhưng được quản lý hiệu quả bằng thuốc giảm đau khi cần thiết [103].

Scholten-Jaegers S. M. và cs. (2017) đánh giá hiệu quả điều trị bằng Flammacerium ở 853 BN bỏng (554 BN nam: 64,9%) thấy có 23 BN có diện tích vết bỏng >40% diện tích cơ thể (2,7%). Có 13/853 BN (1,5%) tử vong và không có trường hợp nào là trẻ em (<16 tuổi). Tỷ lệ tử vong ở nhóm BN bỏng >40% diện tích cơ thể là 30,4%. Ở nhóm >70 tuổi, tỷ lệ tử vong là 6,3%. Các tác giả thấy rằng điều trị Flammacerium có thể áp dụng cho tất cả BN bỏng nhiệt, đặc biệt là trẻ em, BN cao tuổi và BN bị bỏng nặng. Lần phẫu thuật đầu

tiên có thể được trì hoãn cho đến khi BN ổn định và vết thương có thể được che phủ trực tiếp bằng ghép da [102].

Nghiên cứu của chúng tôi về mô bệnh học vết thương bỏng sâu sau đắp thuốc điều trị cho thấy, trên vùng điều trị bằng ceri nitrat làm hoại tử khô nhanh, tăng sinh mạch máu, nguyên bào sợi, hiện tượng này không có sự khác biệt giữa vùng điều trị bằng ceri nitrat và SSD. Xâm nhiễm tế bào viêm, chủ yếu là bạch cầu Neutrophil, kết quả là tương đương giữa vùng đắp thuốc ceri nitrat và SSD (Bảng 3.34).

Như vậy, ceri nitrat tạo hoại tử khô đã bảo vệ làm cho hiện tượng thoát huyết tương, mất dịch giảm bớt, hạn chế sử dụng kháng sinh, tiết kiệm được chi phí điều trị. Hoại tử khô sẽ giúp cho việc thay băng, chăm sóc, cắt bỏ hoại tử ở BN bỏng cũng dễ dàng hơn.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu độc tính, tính kháng khuẩn của ceri nitrat, tác dụng của gel ceri nitrat trên vết bỏng thực nghiệm và bước đầu ứng dụng điều trị vết bỏng nhiệt cho 41 bệnh nhân, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Độc tính và hiệu quả kháng khuẩn *in vitro* của ceri nitrat

- Thử nghiệm độc tính cấp, ceri nitrat không gây chết cho chuột nhắt trắng trong 24 giờ và kéo dài cho đến ngày thứ 14 sau khi uống gel ceri nitrat liều từ 2 đến 40g/kg thể trọng. Chuột thử nghiệm đều không có biểu hiện bất thường, không có thay đổi về hình thái cấu trúc gan, thận, lách.

- Thử nghiệm độc tính bán trường diễn: Sau khi uống gel ceri nitrat liều 1g/kg thể trọng, không có chuột chết trong 4 tuần. Trọng lượng của chuột vẫn tăng dần và đạt 147,4± 8,9g sau 4 tuần, tương đương lô chứng (145,9± 11,8g) và cao hơn trước uống (112,0 ± 5,1g). Các chỉ số đánh giá chức năng tạo máu, chức năng gan, thận đều tương đương lô chứng và trong giới hạn bình thường, không có thay đổi về hình thái cấu trúc gan và thận.

- Gel ceri nitrat không gây kích ứng trên da lành thỏ, không gây ra phản ứng phù nề, tấy đỏ tại chỗ và vùng lân cận, không xuất hiện dị ứng (không có biểu hiện mẩn ngứa, da mịn bóng như trước khi bôi). Điểm trung bình kích ứng sơ cấp bằng 0 tại vùng áp gel ceri nitrat. Trạng thái của tất cả chuột sau bôi 72 giờ khỏe mạnh, bình thường.

- Gel ceri nitrat có tác dụng kháng khuẩn với 10 chủng vi khuẩn quốc tế thường gặp trong bỏng: *Salmonella typhi, Proteus mirabilis, E.coli, P. aeruginosa, Shigella flexneri. Sarcina lutea, Bacillus subtilis, Bacillus pumilus, Bacillus cereus, S. aureus.* Đặc biệt, gel ceri nitrat có tác dụng mạnh với *S. aureus* và *P. aeruginosa*, là hai loại vi khuẩn phổ biến hiện nay gây nhiễm khuẩn tại chỗ vết thương bỏng và có tỷ lệ kháng thuốc cao, đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 15,57 ± 0,42mm và 12,47 ± 1,05mm.

- Gel ceri nitrat có tác dụng kháng khuẩn với cả 3 chủng VK thường gặp ở vết bỏng, thứ tự nhậy cảm là *S. aureus, E. coli* và *P. aeruginosa*. Ở nồng độ pha loãng 1/2 và 1/4, gel có hoạt lực diệt khuẩn hoàn toàn với *E. coli* và *S. aureus* chỉ sau 2 giờ tiếp xúc và với *P. aeruginosa* là sau 6 giờ tiếp xúc.

2. Tác dụng điều trị vết bỏng của gel ceri nitrat

- Trên vết bỏng động vật thực nghiệm, nhóm chuột đắp gel ceri nitrat nhanh chóng chuyển hoại tử khô và giảm mức độ viêm. Tốc độ liền vết bỏng ở nhóm đắp ceri nitrat là 13,07 ± 3,12 mm^2/ngày, nhanh hơn so với nhóm đắp SSD (11,43 ± 1,84 mm^2/ngày, p < 0,05) và nhanh hơn nhiều so với nhóm điều trị NaCl 0,9% (6,83± 1,56 mm^2/ngày, p < 0,001). Gel ceri nitrat làm giảm tần suất mọc và mật độ vi khuẩn ở vết bỏng, ngày thứ 7 và 14 chỉ có 50,0% và 13,3% vết thương nhóm đắp ceri nitrat mọc vi khuẩn, thấp hơn so với nhóm SSD (80,0% và 45%) và nhóm NaCl 0,9% (95,0% và 55,0%), khác biệt với p<0,05. Ngày thứ 21, nhóm đắp gel ceri nitrat có các chỉ số xét nghiệm huyết học và men gan đều trong giới hạn bình thường và tương đương nhóm đắp SSD và nước muối sinh lý.

- Trên vết bỏng độ III sâu của người bỏng tình nguyện, gel ceri nitrat giúp vết thương nhanh khô, giảm nhiễm khuẩn và biểu mô hóa diễn ra thuận lợi. Thời gian khô vết bỏng đắp ceri nitrat là 2,62 ± 0,49 ngày, trong khi vết bỏng đắp SSD vẫn tiết dịch. Thời gian lành vùng đắp gel ceri nitrat là 20,24 ± 1,26 ngày, nhanh hơn so với đắp SSD (21,19 ± 0,92 ngày). Trước đắp thuốc, vi khuẩn xuất hiện ở hai vùng chủ yếu là *P. aeruginosa* và *S. aureus.* Ngày thứ 7 và 14, vùng đắp gel ceri nitrat có 42,9% và 38,2% vết thương cấy khuẩn dương tính, thấp hơn so với vùng đắp SSD là 76,2% và 57,2%. Mật độ vi khuẩn vết thương ngày thứ 14 là 296,9 ± 93,3x10^3/cm^2/, thấp hơn vùng đắp SSD (403,3 ± 80,1x10^3/cm^2 với p <0,05.

- Trên vết bỏng độ IV của người bỏng tình nguyện, vùng đắp ceri nitrat nhanh chóng chuyển hoại tử khô và giảm phù nề, giảm tiết dịch hơn so với vùng đắp SSD. Chỉ mất 2,60 ± 0,50 ngày đắp gel ceri nitrat, vết bỏng sâu đã chuyển khô thuận lợi cho phẫu thuật cắt hoại tử và ghép da. Thời gian bám sống của mảnh da ghép ở vết bỏng sâu điều trị bằng ceri nitrat nhanh hơn vết bỏng sâu điều trị bằng SSD. Không thấy có sự khác biệt về tần suất mọc vi khuẩn vết thương và kết quả ghép da giữa hai vùng đắp thuốc.

KIẾN NGHỊ

Qua nghiên cứu thấy ceri nitrat có hiệu quả trong điều trị vết thương bỏng, do đó, chúng tôi có một số đề nghị sau:

1. Tiếp tục mở rộng nghiên cứu về hiệu quả và tác động của ceri nitrat lên bệnh nhân bỏng, từ đó có những hiểu biết, so sánh hiệu quả điều trị của ceri nitrat với các thuốc điều trị bỏng khác.

2. Sử dụng ceri nitrat vào trong quy trình điều trị vết thương bỏng, đặc biệt là những bệnh nhân bỏng sâu diện rộng chưa có điều kiện phẫu thuật ghép da.

DANH MỤC
CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

1. Nguyen Thanh Chung, Nguyen Ngoc Tuan, Nguyen Thai Son (2020). Study on antibacterial property of Cerium nitrate on common Bacterial types of Burn injury. *Tạp chí Y-Dược học Quân sự*, 45(7): 173-179.

2. Nguyễn Thành Chung, Nguyễn Ngọc Tuấn, Nguyễn Văn Thịnh (2020). Nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của chế phẩm gel và dung dịch Cerium nitrate trên động vật thực nghiệm. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 494(1): 40-44

3. Nguyễn Thành Chung, Nguyễn Ngọc Tuấn, Đỗ Lương Tuấn, Lê Thị Hồng Hạnh (2021). Hiệu quả điều trị tại chỗ của gel ceri nitrat trên vết bỏng thực nghiệm. *Tạp chí Y-Dược học Quân sự*, 46(1): 113-125.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Học viện Quân y (2016), *Giáo trình sau đại học*, Học viện Quân y, Hà Nội.
2. Li H., Ya Z., Tan J., et al. (2017). Epidemiology and outcome analysis of 6325 burn patients: a five-year retrospective study in a major burn center in Southwest China. *Scienghiên cứue reports*, 7(46066): 1-9.
3. Lê Thế Trung (2003), *Bỏng-Những kiến thức chuyên ngành*, Nhà xuất bản y học, Hà Nội.
4. Chaudhary N. A., Munawar M. D., Khan M. T., et al. (2019). Epidemiology, Bacteriological Profile, and Antibiotic Sensitivity Pattern of Burn Wounds in the Burn Unit of a Tertiary Care Hospital. *Cureus*, 11(6): e4794.
5. Forson O. A., Ayanka E., Olu-Taiwo M., et al (2017). Bacterial infections in burn wound patients at a tertiary teaching hospital in Accra, Ghana. *Ann Burns Fire Disasters*, 30(2): 116-120.
6. Eski. M., Ozer. F., Firat. C., et al. (2012). Cerium nitrate treatment prevents progressive tissue necrosis in the zone of stasis following burn. *Burns*, 38(2012): 283-9.
7. Jakupec. M. A., Unfried. P., Keppler. B. K. (2005). Pharmacological properties of cerium compounds. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 153: 101-11.
8. Jeschke M. G., Baar M. E. V., Choudhry M. A., et al. (2020). Burn injury. *Nat Rev Dis Primers*, 6(11): 1-25.
9. Michael R. H. (2019). Novel pharmacotherapy for burn wounds: what are the advancements. *Expert Opin Pharmacother*, 20(3): 305–321.
10. Ridiandries A, Tan J. T. M., Bursill C. A. (2018). The Role of Chemokines in Wound Healing. *Int J Mol Sci*, 19(3217): 1-20.

11. Veith A. P., Henderson K., Spencer A. (2019). Therapeutic Strategies for Enhancing Angiogenesis in Wound Healing. *Adv Drug Deliv Rev*, 146: 97–125.
12. Wietecha. M. S., Chen. L., Ranzer. M. J., et al. (2011). Sprouty2 downregulates angiogenesis during mouse skin wound healing. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 300(2): H459-67.
13. Hesketh M., Sahin K. B., West Z. E., et al. (2017). Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. *Int J Mol Sci. 2017 Jul*, 18(1545): 1-10.
14. Davis. G. E., Senger. D. R. (2005). Endothelial extracellular matrix: biosynthesis, remodeling, and functions during vascular morphogenesis and neovessel stabilization. *Circ Res*, 97(11): 1093-107.
15. Pastar. I., Stojadinovic. O., Yin. N. C., et al. (2014). Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 3(7): 445-464.
16. Keane T. J., Horejs C. M., Stevens M. M. (2018). Scarring vs. Fuctional repair: Matrix-based strategies to regulate tissue healing. *Adv Drug Deliv Rev*, 129: 407–419.
17. Chiang R. S., Borovikova A. A., King K., et al. (2018). Current concepts related to hypertrophic scarring in burn injuries. *Wound Repair Regen*, 24(3): 466–477.
18. Ayadi A. E., Jay J. W., Prasai A. (2020). Current Approaches Targeting the Wound Healing Phases to Attenuate Fibrosis and Scarring. *Int J Mol Sci*, 21(1105): 1-28.
19. Wilgus T. A. (2019). Vascular Endothelial Growth Factor and Cutaneous Scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 8(12): 671–678.
20. Chen Y. Y., Wu P. F., Chen C. S., et al. (2020). Trends in microbial profile of burn patients following an event of dust explosion at a tertiary medical center. *BMC Infect Dis*, 20(193): 1-11.

21. Gupta M., Naik A. K., Singh S. K. (2019). Bacteriological profile and antimicrobial resistance patterns of burn wound infections in a tertiary care hospital. *Heliyon*, 5(12): e02956.
22. Church. D., Elsayed. S., Reid. O., et al. (2006). Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev*, 19(2): 403-34.
23. Branski. L. K., Al-Mousawi. A., Rivero. H., et al. (2009). Emerging infections in burns. *Surg Infect (Larchmt)*, 10(5): 389-97.
24. Emami A., Pirbonyeh N., Keshavarzi A., et al. (2020). Three Year Study of Infection Profile and Antimicrobial Resistane Pattern from Burn Patients in Southwest Iran. *Infect Drug Resist*, 13: 1499-1506.
25. Dalamaga. M., Karmaniolas. K., Chavelas. C., et al. (2003). Stenotrophomonas maltophilia: a serious and rare complication in patients suffering from burns. *Burns*, 29(7): 711-3.
26. Li L., Dai J. X., Xu L., et al. (2018). Antimicrobial resistane and pathogen distribution in hospitalized burn patients: A multicenter study in Southeast China. *Medicine (Baltimore)*, 97(34): e11977.
27. Phạm Trịnh Quốc Khanh (2018). Cập nhật chọn lựa dung dịch rửa vết thương. *Tạp chí Y học Thảm họa và Bỏng*, 1: 17- 27.
28. Rendueles O., Ghigo. J. M. (2012). Multi-species biofilms: How to avoid unfriendly neighbors. *FEMS Microbiol. Rev*, 36: 972–989.
29. Omar A., Wright J. B., Schultz G., et al. (2017). Microbial Biofilms and Chronic Wounds. *Microorganisms*, 5(9): 1-15.
30. Brandenburg K. S., Weaver A. J. Jr, Qian L., et al. (2019). Development of Pseudomonas aeruginosa Biofilms in Partial-Thickness Burn Wounds Using a Sprague-Dawley Rat Model. *J Burn Care Res*, 40(1): 44-57.
31. Brandenburg K. S., Weaver A. J. Jr., Karna S. L. R., et al. (2019). Formation of Pseudomonas aeruginosa Biofilms in Full-thickness Scald Burn Wounds in Rats. *Sci Rep*, 9(13627): 1-12.

32. Ohadian Moghadam S., Pourmand M. R., Aminharati F. (2014). Biofilm formation and antimicrobial resistanghiên cứue in methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from burn patients, Iran. *J Infect Dev Ctries*, 8(12): 1511-7.
33. Ghanbarzadeh Corehtash Z., Khorshidi A., Firoozeh F., et al. (2015). Biofilm Formation and Virulenghiên cứue Factors Among Pseudomonas aeruginosa Isolated From Burn Patients. *Jundishapur J Microbiol*, 8(10): e22345.
34. Ramakrishnan M., Putli Bai S., Babu M. (2016). Study on biofilm formation in burn wound infection in a pediatric hospital in Chennai, India. *Ann Burns Fire Disasters*, 29(4): 276-280.
35. Asati S., Chaudhary U. (2017). Prevalenghiên cứue of biofilm producing aerobic bacterial isolates in burn wound infections at a tertiary care hospital in northern India. *Ann Burns Fire Disasters*, 30(1): 39-42.
36. Foster L. L., Yusa S. I., Kuroda K. (2019). Solution-Mediated Modulation of Pseudomonas aeruginosa Biofilm Formation by a Cationic Synthetic Polymer. *Antibiotics (Basel)*, 8(61): 1-16.
37. Williams. F. N., Herndon. D. N., Hawkins. H. K., et al. (2009). The leading causes of death after burn injury in a single pediatric burn center. *Crit Care*, 13(6): R183.
38. Montazeri. E. A., Khosravi. A. D., Jolodar. A., et al. (2015). Identification of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) strains isolated from burn patients by multiplex PCR. *Burns*, 41(3): 590-4.
39. Vinaik R., Barayan D., Shahrokhi S., et al. (2019). Management and prevention of drug resistant infections in burn patients. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 17(8): 607-619.

40. Lachiewicz A. M., Hauck C. G., Weber D. J., et al. (2018). Bacterial Infections After Burn Injuries: Impact of Multidrug Resistance. *Clin Infect Dis*, 65(12): 2130-2136.
41. Chen K., Lin S., Li P., et al. (2018). Characterization of Staphylococcus aureus isolated from patients with burns in a regional burn center, Southeastern China. *BMC Infect Dis*, 18(51): 1-7.
42. Latifi N. A., Karimi H. (2017). Correlation of occurrence of infection in burn patients. *Ann Burns Fire Disasters*, 30(3): 172-176.
43. Norbury W., Herndon D. N., Tanksley J., et al. (2016). Infection in Burns. *Surg Infect (Larchmt)*, 17(2): 250-5.
44. Shokoohizadeh L., Ekrami A., Labibzadeh M., et al. (2018). Antimicrobial resistanghiên cứue patterns and virulence factors of enterococci isolates in hospitalized burn patients. *BMC Res Notes*, 11(1): 1-5.
45. Bayram Y., Parlak M., Aypak C., et al. (2013). Three-year review of bacteriological profile and antibiogram of burn wound isolates in Van, Turkey. *Int J Med Sci*, 10(1): 19-23.
46. Nghiêm Danh Bảy (2012), *Nghiên cứu tác dụng điều trị tại chỗ của cream herbavera trên vết bỏng do nhiệt*, Luận án Tiến sĩ y học, Học viện Quân y.
47. Trương Thị Thu Hiền (2015). Căn nguyên và đặc điểm kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh tại Viện Bỏng Quốc gia – 2014. *Tạp chí Y học Thảm họa và Bỏng*, 2: 66- 71.
48. Lê Quốc Chiểu, Trương Thị Thu Hiền, Ngô Minh Đức và cs. (2018). Căn nguyên và mức độ kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn gây bệnh thường gặp tại Viện Bỏng Quốc gia năm 2017. *Tạp chí Y học Thảm họa và Bỏng*, 5: 178-179.

49. Chu Anh Tuấn, Nguyễn Thị Hương Giang, Phan Thị Tố Như (2015). Căn nguyên và mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn phân lập từ các bệnh nhân bỏng người lớn điều trị tại Khoa Điều trị tích cực - Viện Bỏng Quốc gia. *Tạp chí Y học Thảm họa và Bỏng*, 3: 34-44.
50. Lương Quang Anh, Nguyễn Gia Tiến, Nguyễn Thị Hồng Thắm và cs. (2016). Khảo sát một số đặc điểm vi sinh vật và kháng sinh sử dụng tại Khoa Hồi sức cấp cứu, Viện Bỏng Lê Hữu Trác năm 2014. *Tạp chí Y học Thảm họa và bỏng*, 4: 26-31.
51. Ranjbar R., Farahani A. (2019). Study of genetic diversity, biofilm formation, and detection of Carbapenemase, MBL, ESBL, and tetracycline resistanghiên cứue genes in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolated from burn wound infections in Iran. *Antimicrob Resist Infect Control*, 8(172): 1-11.
52. Wang L. F., Li J. L., Ma W. H., et al. (2014). Drug resistance analysis of bacterial strains isolated from burn patients. *Genet Mol Res*, 13(4): 9727-34.
53. Keen E. F., Robinson B. J., Hospenthal D. R., et al. (2010). Prevalence of multidrug-resistant organisms recovered at a military burn center. *Burns*, 36(6): 819-25.
54. Horvath. E. E., Murray. C. K., Vaughan. G. M., et al. (2007). Fungal wound infection (not colonization) is independently associated with mortality in burn patients. *Ann Surg*, 245(6): 978-85.
55. Ballard. J., Edelman. L., Saffle. J., et al. (2008). Positive fungal cultures in burn patients: a multicenter review. *J Burn Care Res*, 29(1): 213-21.
56. Phạm Phước Tiến, Trần Đoàn Đạo, Lê Nguyễn Diên Minh (2015). Đặc điểm nhiễm nấm máu trên bệnh nhân bỏng nặng tại khoa bỏng Bệnh viện Chợ Rẫy từ năm 2012-2014. *Tạp chí Y học Thảm họa và Bỏng*, 2: 36-44.

57. Nguyễn Thái Ngọc Minh, Nguyễn Hải An (2019). Đánh giá đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng bệnh nhân bỏng nặng nhiễm nấm xâm lấn. *Tạp chí Y học Thảm họa và Bỏng*, 3: 20-28.
58. Cartotto R. (2017). Topical antimicrobial agents for pediatric burns. *Burns & Trauma*, 5(33): 1-8.
59. Norman G., Christie J., Liu Z., et al. (2017). Antiseptics for burns. *Cochrane Database Syst Rev*, 7(7): CD011821.
60. Slaviero L., Avruscio G., Vindigni V., et al. (2018). Antiseptics for burns: a review of the evidenghiên cứue. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 31(3): 198–203.
61. Cancio L. C., Barillo D. J., Kearns R. D., et al. (2016). Guidelines for Burn Care Under Austere Conditions: Surgical and Nonsurgical Wound Management. *J Burn Care Res*, 30(30): 1-12.
62. Davies. A., Spickett-Jones. F., Brock. P., et al. (2017). Variations in guideline use and practice relating to diagnosis and management of infection in paediatric burns services in England and Wales: A national survey. *Burns*, 43(1): 215-222.
63. Bùi Tất Hợp, Trịnh Đình Huấn (2010). Tổng quan về đất hiếm ở Việt Nam. *Tạp chí Địa chất, Cục Địa chất và Khoáng sản Việt Nam*, 320: .
64. Võ Văn Tần (2007), *Hóa học các nguyên tố đất hiếm*, Nhà xuất bản Giáo dục.
65. J. P. Garner, P. S. Heppell (2005). Cerium nitrate in the management of burns. *Burns*, 31(5): 539-47.
66. Zhang J., Li Y., Hao X., et al. (2011). Recent progress in therapeutic and diagnostic applications of lanthanides. *Mini Rev Med Chem*, 11(8): 678-94.
67. Merck The safety data sheets for catalog items, USA. according to Regulation (EC) No. 1907/2006. Version 3.5. www.merckgroup.com

68. Lorenz C., Specht U., Beyer W., et al. (1988). Experiences with the use of cerium nitrate silver sulfadiazine in the local treatment of thermal injuries in childhood. *Zentralbl Chir*, 113(19): 1273-9.
69. Garner J. P., Heppell P. S. (2005). The use of Flammacerium in British Burns Units. Burns31(3): 379-82.
70. Schmauss D., Rezaeian F., Finck T., et al. (2015). Treatment of secondary burn wound progression in contact burns-a systematic review of experimental approaches. *J Burn Care Res*, 36(3): e176-89.
71. Correia-Sá I., Marques M., Horta R., et al. (2020). Experience in management of burn injury during pregnancy in a Burn Unit. *J Burn Care Res*: iraa141.
72. Burkes S., McCleskey C. S. (1947). The bacteriostatic activity of cerium, lanthanum and thallium. *J Bacteriol*, 54: 417-24.
73. Sobek J. M. (1968). The effects of rare earth cerium on Escherichia coli. *J Bacteriol*, 95: 47-51.
74. Evans C. H. (1983). Interesting and useful biochemical properties of lanthanides. *Trends Biochem Sci*, 1983: 445-449.
75. Furie B. C., Furie B. (1975). Interaction of lanthanide ions with bovine factor X and their use in the affinity chromatography of the venom coagulant protein of Vipera russelli. *J Biol Chem*, 250: 601-608.
76. Gruner S., Diezel W., Strunk D., et al. (1991). Inhibition of Langerhans cell ATPase and contact sensitization by lanthanides-role of T suppressor cells. *J Invest Dermatol*, 97: 478-482.
77. Gruner S., Sehrt I., Muller. G. M., et al. (1992). Inhibition of histamine release from human granulocytes by ions of the rare earth elements lanthanum and cerium. *Agents Actions*, 36(3-4): 207-11.
78. Herruzo C. R., Garcia-Torres. V., Rey-Calero. J., et al. (1992). Evaluation of the penetration strength, bactericidal efficacy and

spectrum of action of several antimicrobial creams against isolated microorganisms in a burn centre. *Burns*, 18(1): 39-44.

79. Fraser J. F., Bodman J., Sturgess R., et al. (2004). An in vitro study of the anti-microbial efficacy of a 1% silver sulphadiazine and 0.2% chlorhexidine digluconate cream, 1% silver sulphadiazine cream and a silver coated dressing. *Burns*, 30(1): 35-41.
80. Helvig E. I., Munster A. M., Su C. T., et al. (1979). Cerium nitratesilver sulfadiazine cream in the treatment of burns: a prospective, randomized study. *Am Surg*, 45(4): 270-2.
81. Monafo. W. W., Tandon. S. N., Ayvazian. V. H., et al. (1976). Cerium nitrate: a new topical antiseptic for extensive burns. *Surgery*, 80(4): 465-73.
82. Fox C. L. Jr., Monafo W. W. Jr., Ayvazian V. H., et al. (1977). Topical chemotherapy for burns using cerium salts and silver sulfadiazine. *Surg Gynecol Obstet*, 144(5): 668-72.
83. Ross. D. A., Phipps. A. J., Clarke. J. A. (1993). The use of cerium nitrate-silver sulphadiazine as a topical burns dressing. *Br J Plast Surg*, 46(7): 582-4.
84. Bowser B. H., Caldwell F. T., Cone J. B., et al. (1981). A prospective analysis of silver sulfadiazine with and without cerium nitrate as a topical agent in the treatment of severely burned children. *J Trauma*, 21(7): 558-63.
85. W. Boeckx, M. Focquet, M. Cornelissen, et al. (1985). Bacteriological effect of cerium-flamazine cream in major burns. *Burns Inghiên cứul Therm Inj*, 11(5): 337-42.
86. Marone. P., Monzillo. V., Perversi. L., et al. (1998). Comparative in vitro activity of silver sulfadiazine, alone and in combination with cerium nitrate, against staphylococci and gram-negative bacteria. *J Chemother*, 10(1): 17-21.

87. M. Vehmeyer-Heeman, T. Tondu, E. Van den Kerckhove, et al. (2006). Application of cerium nitrate–silver sulphadiazine allows for postponement of excision and grafting. *Burns*, 32: 60–63.
88. Nguyễn Ngọc Tuấn, Phan Thị Thục Trang (2019). Đánh giá tác dụng điều trị của dung dịch Ceri Nitrat 0,04M tại vết thương khâu kín vùng cho da và khâu kín sau cắt sẹo. *Tạp chí Y học Thảm họa và Bỏng*, 4: 59-67.
89. Kremer. T., Hernekamp. F., Riedel. K., et al. (2009). Topical application of cerium nitrate prevents burn edema after burn plasma transfer. *Microvasc Res*, 78(3): 425-31.
90. Hernekamp J. F., Harenberg P. S., Lehnhardt M. et al. (2012). Microvascular effects of burn plasma transfer and therapeutic options in a rat model. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, 44(4): 209-19.
91. Peterson. V. M., Hansbrough. J. F., Wang. X. W., et al. (1985). Topical cerium nitrate prevents postburn immunosuppression. *J Trauma*, 25(11): 1039-44.
92. Sparkes B. G. (1993). Mechanisms of immune failure in burn injury. *Vaccine*, 11(5): 504-10.
93. Fang Y., Chen Y., Wei D. (1996). Effects of wound wet dressing with cerium nitrate on cell-mediated immunity after severe burn. *Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi*, 12(4): 265-7.
94. Qian L. W., Evani S. J., Chen P., et al. (2020). Cerium nitrate treatment provides eschar stabilization through reduction in bioburden, DAMPs, and inflammatory cytokins in a rat scald burn model. *J Burn Care Res*, 41(3): 576-584.
95. Sengezer M., Deved M., Eski M. (1998). Cerium nitrate bathing prevents TNF-α elevation following burn injury (experimental study). *Ann Medit Burns Club*, 11(4): 227-231.

96. Deveci. M., Eski. M., Sengezer. M., et al. (2000). Effects of cerium nitrate bathing and prompt burn wound excision on IL-6 and TNF-alpha levels in burned rats. *Burns*, 26(1): 41-5.
97. Nguyễn Như Lâm, Trần Đình Hùng (2017). Biến đổi nồng độ một số cytokin huyết thanh ở bệnh nhân bỏng có biến chứng ARDS. *Tạp chí Y học Thảm họa và Bỏng*, 2: 12-16.
98. Boeckx. W., Blondeel. P. N., Vandersteen. K., et al. (1992). Effect of cerium nitrate-silver sulphadiazine on deep dermal burns: a histological hypothesis. *Burns*, 18(6): 456-62.
99. Eski M., Deveci M., Celiköz B., et al. (2001). Treatment with cerium nitrate bathing modulate systemic leukocyte activation following burn injury: an experimental study in rat cremaster muscle flap. *Burns*, 27(7): 739-46.
100. Hadjiiski O. G., Lesseva M. I. (1999). Comparison of four drugs for local treatment of burn wounds. *Eur J Emerg Med*, 6(1): 41-7.
101. Lansdown A. B., Myers S. R., Clarke J. A., et al. (2003). A reappraisal of the role of cerium in burn wound management. *J Wound Care*, 12(3): 113-8.
102. Scholten-Jaegers S. M., Nieuwenhuis M. K., Baar M. E. V., et al. (2017). Epidemiology and outcome of patients with burns treated with cerium nitrate-silversulfadiazine. *J Burn Care Res*, 38(1): e432-e442.
103. De Gracia C. G. (2001). An open study comparing topical silver sulfadiazine and topical silver sulfadiazine-cerium nitrate in the treatment of moderate and severe burns. *Burns*, 27(1): 67-74.
104. Cobrado L., Azevedo M. M., Silva-Dias A., et al. (2012). Cerium, chitosan and hamamelitannin as novel biofilm inhibitors. *J Antimicrob Chemother*, 67(5): 1159-62.

105. Teixeira S. R. Z., dos Reis E., Apati G. P., Meier M. M., et al. (2019). Biosynthesis and functionalization of bacterial cellulose membranes with cerium nitrate and silver nanoparticles. *Materials Research*, 22(1): e20190054.
106. Ramenzoni L. L., Weber F. E., Attin T., et al. (2017). Cerium chloride application promotes wound healing and cell proliferation in human foreskin fibroblasts. *Materials*, 10(573): 1-9.
107. Nur-Ahmad L., Mohammad-Javad F. D. C., Ali-Asghar S. K., et al. (2019). Comparing the effects of silver sulfadiazine and cerium nitrate silver sulfadiazine on burn-wound healing and survival rate of rat animal model. *J Surg Med*, 3(6): 433-436.
108. Vitse J., Tchero H., Meaume S., et al. (2018). Silver sulfadiazine and cerium nitrate in ischemic skin necrosis of the leg and foot: Results of a prospective randomized controlled study. *Int J Low Extrem Wounds*, 17(3): 151-160.
109. Darres A., Delaval R., Fournier A., et al. (2019). The effectiveness of topical cerium nitrate-silver sulfadiazine application on overall outcome in patients with calciphylaxis. *Dermatology*, 235(2): 120-129.
110. Wassermann. D., Schlotterer. M., Lebreton. F., et al. (1989). Use of topically applied silver sulphadiazine plus cerium nitrate in major burns. *Burns*, 15(4): 257-60.
111. Kistler D., Hafemann B., Schoenenberger G. A., et al. (1990). Increased survival rates by topical treatment of burns with cerium nitrate. *Eur Surg Res*, 22(5): 283-90.
112. Scheidegger. D., Sparkes. B. G., Luscher. N., et al. (1992). Survival in major burn injuries treated by one bathing in cerium nitrate. *Burns*, 18(4): 296-300.

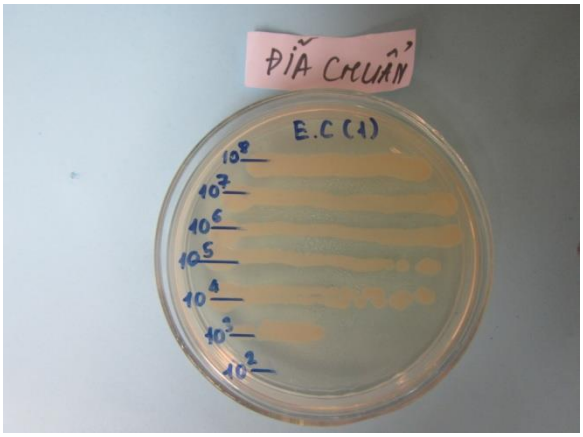
113. Vehmeyer-Heeman M., Van Holder C., Nieman F., et al. (2007). Predictors of mortality: a comparison between two burn wound treatment policies. *Burns*, 33(2): 167-72.
114. Kath M. A., Shupp J. W., Matt S. E., et al. (2011). Incidence of methemoglobinemia in patients receiving cerium nitrate and silver sulfadiazine for the treatment of burn wounds: a burn center's experience. *Wound Repair Regen*, 19(2): 201-4.
115. Ha L. Y., Woollard G. A., Chiu W. W. (2015). Falsely raised whole blood chloride caused by systemic absorption of cerium nitrate cream for burns. *Ann Clin Biochem*, 25(2): 288-92.
116. Ramesh A., Ratla N. N., Indukuri R., et al. (2014). Acute and sub-acute oral toxicity assessment of the cerium oxide nanoparticles in wistar rats. *International Journal of Phytopharmacology*, 5(1): 46-50.
117. Wu Y., Tang X., Yang W., et al. (2019). Subchronic toxicity of cerium nitrate by 90-day oral exposure in wistar rats. *Regul Toxicol Pharmacol*, 108: 104474.
118. Boye T., Terrier J. P., Coillot C., et al. (2006). Cerium-induced granulomatous dermatitis. *Ann Dermatol Venereol*, 133(1): 50-2.
119. Nguyễn Ngọc Tuấn và cs (2014). *Nghiên cứu bào chế dung dịch Ceri nitrat và gel Ceri nitrat, bước đầu đánh giá tác dụng của chế phẩm tại vết thương bỏng*. Báo cáo tổng kết đề tài cấp thành phố Hà Nội.
120. OECD guideline for testing chemicals (2001). OECD/OCDE 423; Acute oral toxicity - Acute toxic class method.
121. Reagan-Shaw S., Nihal M., Ahmad N. (2007). Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB Journal* 22: 659–661.
122. Nguyễn Thượng Dong và cs (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
123. OECD guideline for testing chemicals 407 (2008). Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents: 1-13.

124. OECD guideline for testing chemicals (2015). OECD/OCDE 404 Acute dermal irritation/Corrosion.
125. Nguyễn Thị Tỵ (1989), *Tác dụng điều trị tại chỗ vết thương bỏng thực nghiệm của tinh dầu tràm và bước đầu ứng dụng lâm sàng*, Luận án phó tiến sĩ khoa học Y Dược, Học viện Quân y, Hà Nội.
126. Nguyễn Ngọc Tuấn (1998), *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và tác dụng điều trị tại chỗ vết bỏng vôi tôi nóng của thuốc mỡ Maduxin*, Luận án Tiến sĩ Y học, Học viện Quân y.
127. Bộ môn Vi sinh - Trường Đại học Y Hà Nội (2007), *Vi sinh Y học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
128. Rosenkranz H. S. (1979). A synergistic effect between cerium nitrate and silver sulphadiazine. *Burns*, 5: 278-81.
129. Schuenck. R. P., Dadalti. P., Silva. M. G., et al. (2004). Oxacillin- and mupirocin-resistant Staphylococcus aureus: in vitro activity of silver sulphadiazine and cerium nitrate in hospital strains. *J Chemother*, 16(5): 453-8.
130. Silva-Dias A., Miranda I. M., Branco J., et al. (2015). In vitro antifungal activity and in vivo antibiofilm activity of cerium nitrate against Candida species. *J Antimicrob Chemother*, 70(4): 1083-93.
131. Hirakawa K. (1983). Determination of silver and cerium in the liver and the kidney from a severely burned infant treated with silver sulfadiazine and cerium nitrate. *Radioisotopes*, 32: 59-65.
132. Oen I. M., Baar M. E. V, Middelkoop E., et al. (2012). Effectiveness of cerium nitrate-silver sulfadiazine in the treatment of facial burns: a multicenter, randomized, controlled trial. *Plast Reconstr Surg*, 130(2): 274e-283e.
133. de Graaf E., Baar M. E. V., Baartmans M. G. A., et al. (2017). Partial-thickness scalds in children: A comparison of different treatment strategies. *Burns*, 43(4): 733-740.

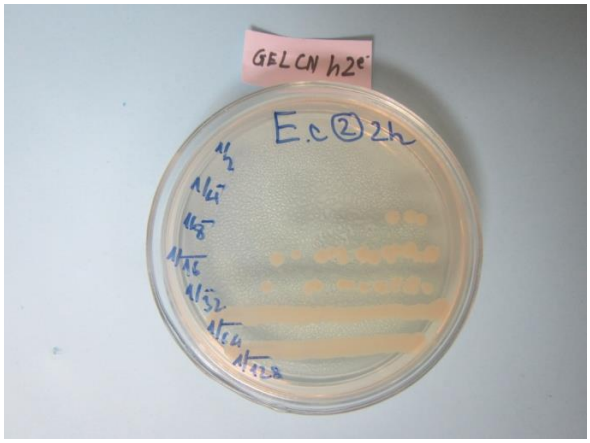
PHỤ LỤC 1

HÌNH ẢNH MINH HỌA

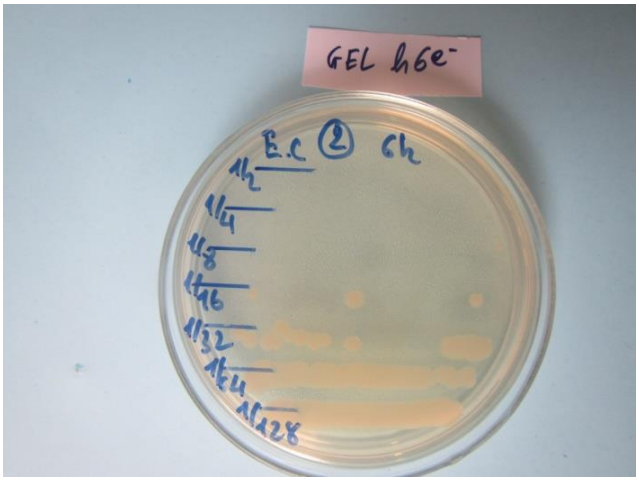
1. Hình ảnh cấy khuẩn xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu



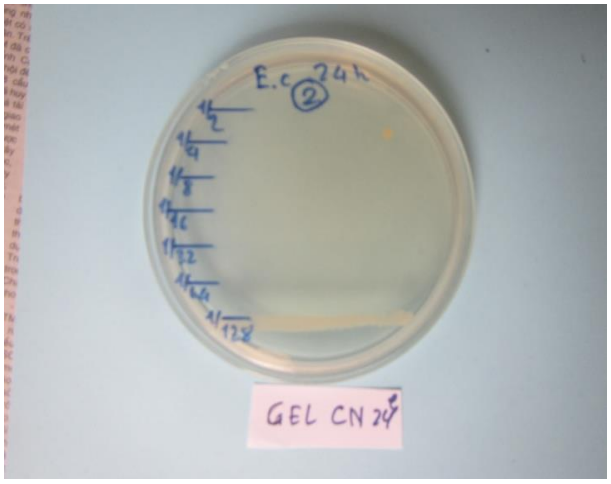
E. coli (đĩa chuẩn)



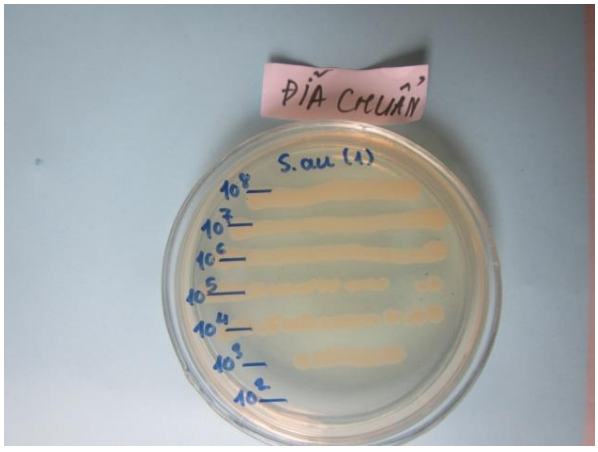
E.coli sau 2 giờ



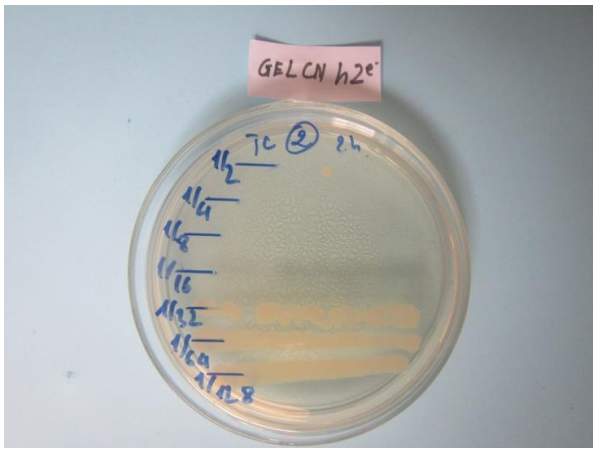
E. coli sau 6 giờ



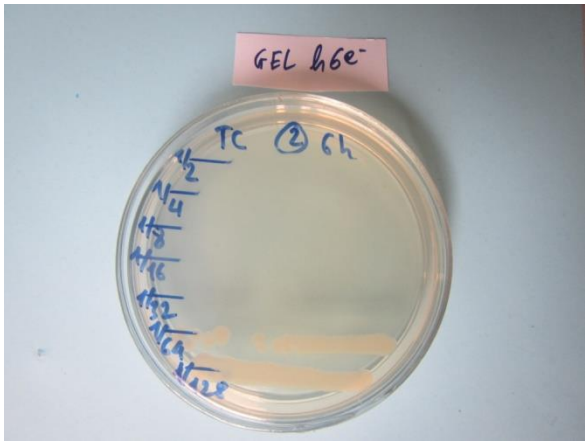
E. coli sau 24 giờ



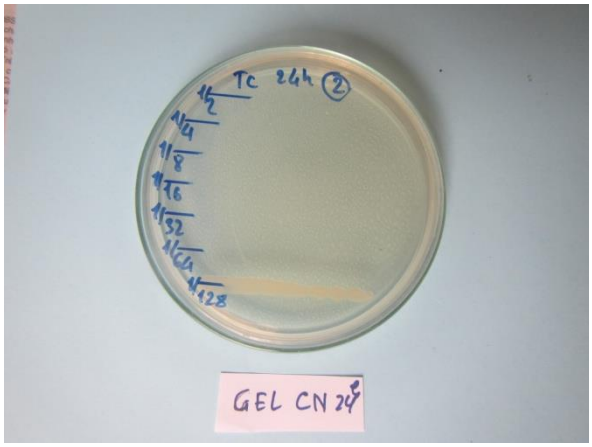
S. aureus (đĩa chuẩn)



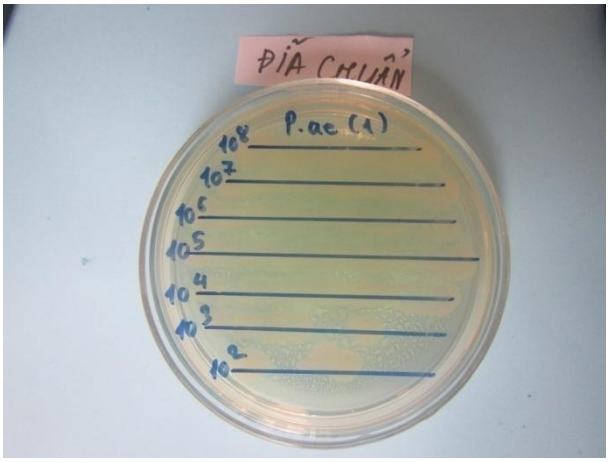
S. aureus sau 2 giờ



S. aureus sau 6 giờ

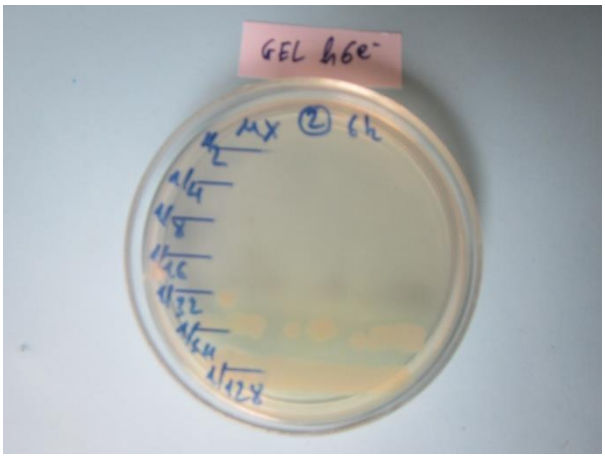


S. aureus sau 24 giờ

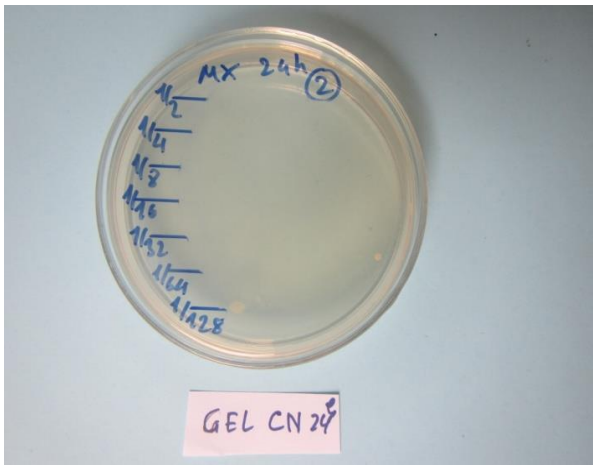


P. aeruginosa (đĩa chuẩn)

P. aeruginosa sau 2 giờ



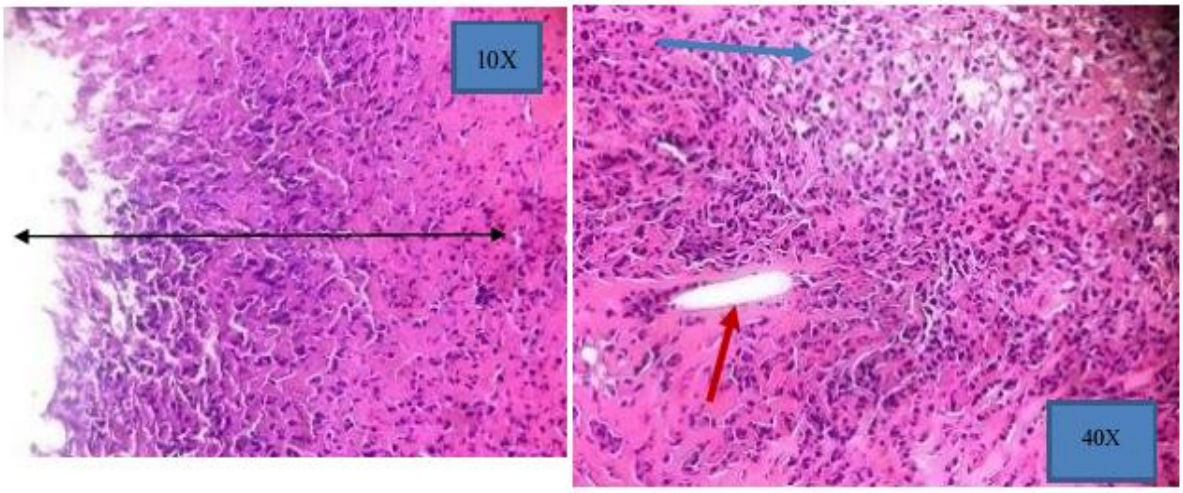
P. aeruginosa sau 6 giờ



P. aeruginosa sau 24 giờ

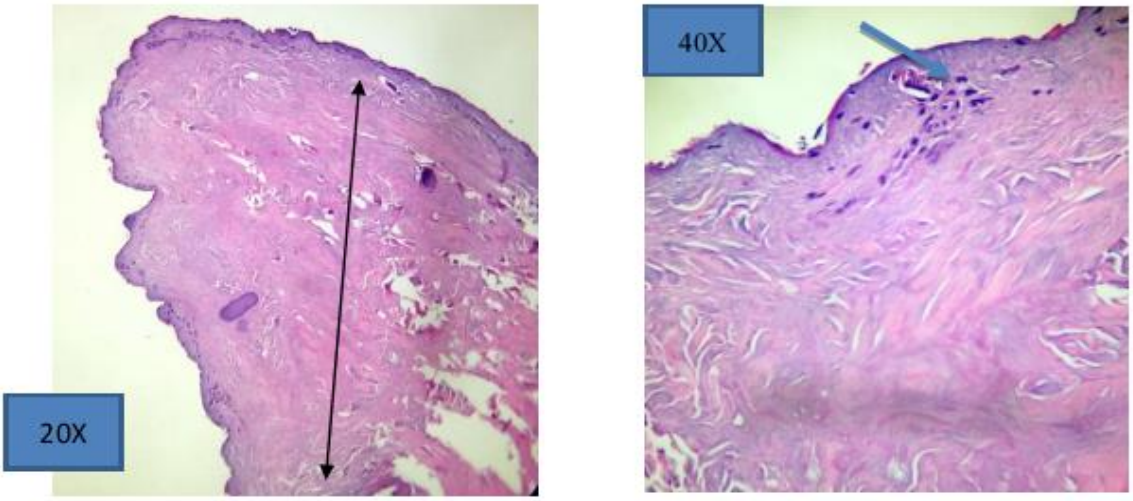
PL1. Khuẩn lạc của *E. coli*, *S. aureus* và *P. aeruginosa* ở các thời điểm tiếp xúc với gel ceri nitrat

2. Hình ảnh giải phẫu bệnh vết thương bỏng sâu



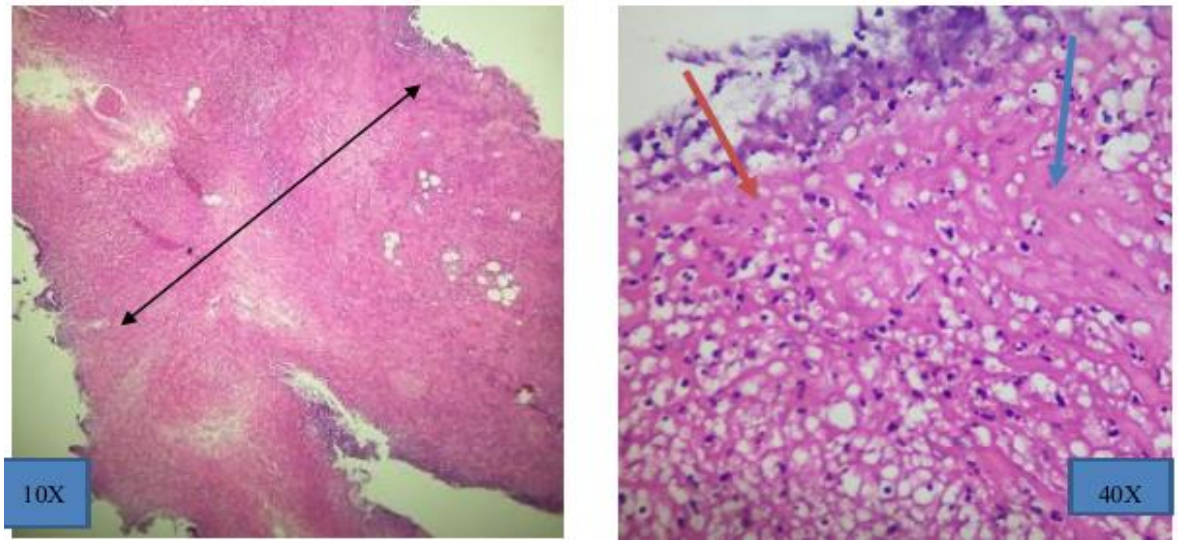
PL2. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng A trước đắp thuốc

Hoại tử tơ huyết ở bề mặt da, trong đó có nhiều bạch cầu N (mũi tên xanh). Hoại tử đông đến lớp chân bì bao gồm các nang lông (mũi tên đỏ) và tuyến mồ hôi. Mô liên kết xơ bị hyalin hóa, mạch máu bị xuất huyết, hoại tử, mô kẽ có ít dịch phù. HE 10X và 40X; (Tiêu bản số: D1532A - T0).



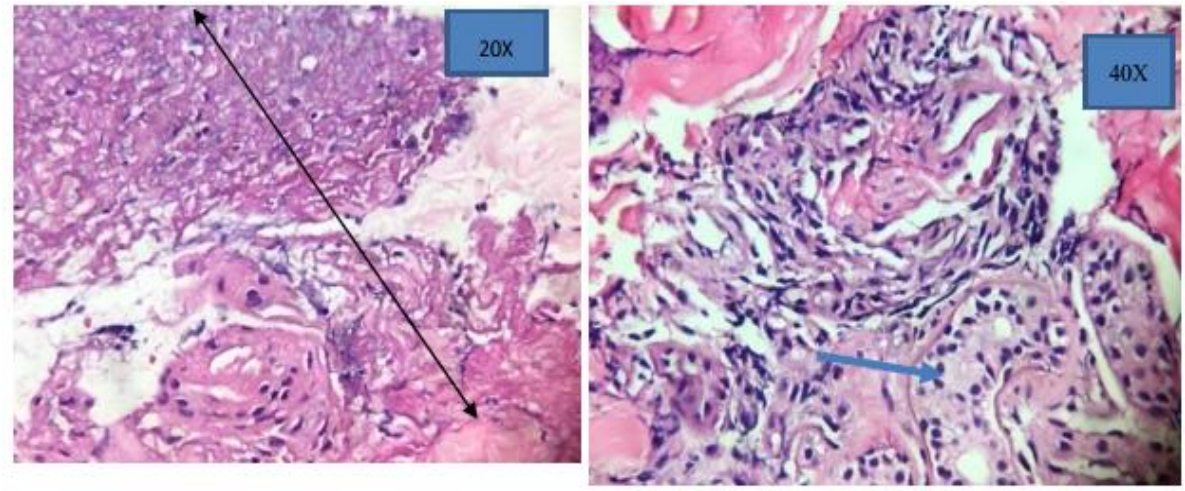
PL3. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng A ngày đắp thuốc thứ 3

Da bị hoại tử toàn bộ đến lớp chân bì (mũi tên đen), các nang lông cũng bị hoại tử, một số mạch máu méo mó, lòng chứa hồng cầu (mũi tên xanh), sợi liên kết dính chặt vào nhau. Bề mặt hoại tử khôngcó xâm nhiễm tế bào viêm. HE 20X và 40X; (Tiêu bản số: D1532A – T3).



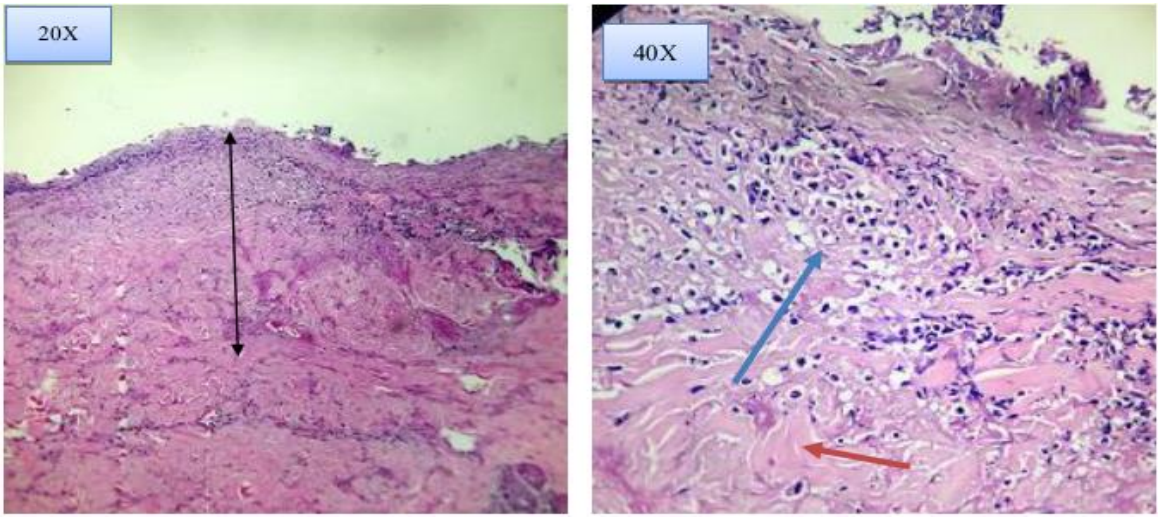
PL4. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng A ngày đắp thuốc thứ 7

Vết thương còn nhiều (mũi tên đen), bề mặt hoại tử có các sợi tơ huyết (mũi tên xanh), mô dưới hoại tử có sự xâm nhiễm nhiều tế bào viêm là bạch cầu N, bạch cầu thoái hóa (mũi tên vàng), mô kẽ nhiều dịch phù và sợi tơ huyết. HE 10X và 40X; (Tiêu bản số: D1532A – T7).



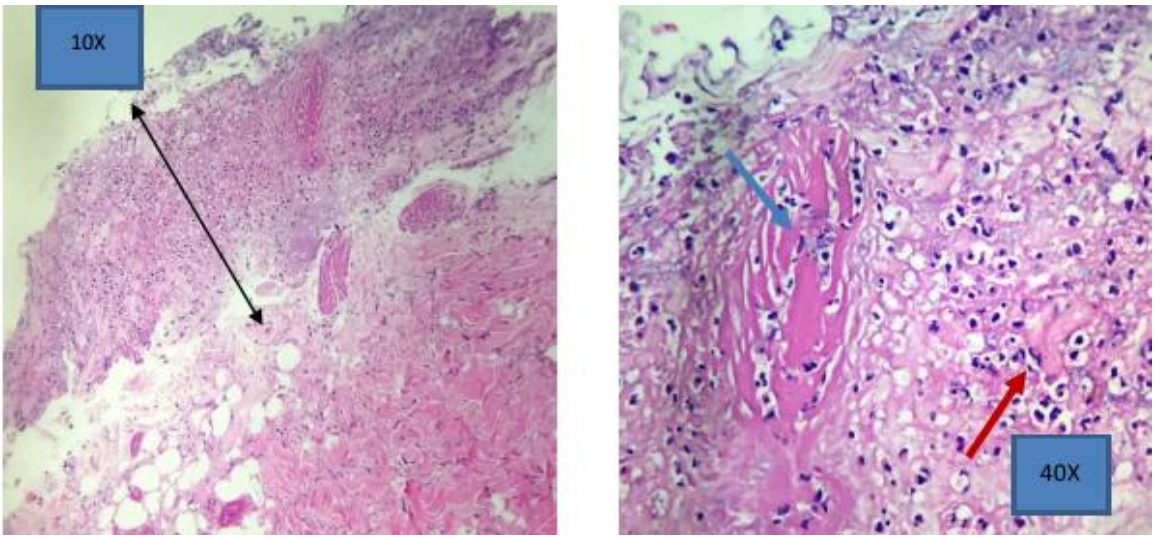
PL5. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng B trước đắp thuốc

Hoại tử tơ huyết bề mặt với ít bạch cầu N (mũi tên đen), chân bì có tuyến mồ hôi còn rõ các tiểu cầu mồ hôi (mũi tên xanh), các tế bào lympho xâm nhiễm quanh tuyến. Mô liên kết ở chân bì bị hyalin hóa. HE 20X và 40X; (Tiêu bản số: D1532B - T0).



PL6. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng B ngày đắp thuốc thứ 3

Hoại tử toàn bộ lớp biểu bì đến lớp chân bì (mũi tên đen), bề mặt có xâm nhiễm các tế bào viêm là bạch cầu N (mũi tên xanh), mô liên kết vùng chân bì phù nhẹ, tế bào sợi bị hyalin hóa (mũi tên vàng), mạch máu số lượng ít bị sung huyết. HE 20X và 40X; (Tiêu bản số: D1532B – T3).



PL7. Hình thái cấu trúc mô vết bỏng sâu vùng B ngày đắp thuốc thứ 7

Hoại tử toàn bộ từ biểu bì đến lớp mỡ dưới da vùng chân bì (mũi tên đen), mô dưới hoại tử có nhiều tế bào viêm là bạch cầu N xâm nhiễm, có xác bạch cầu (mũi tên đỏ), mạch máu bị hoại tử (mũi tên xanh), mô kẽ nhiều dịch phù, sợi tơ huyết. HE 20X và 40X; (Tiêu bản số: D1532B – T7).

PHỤ LỤC 2
BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

PHỤ LỤC 3
DANH SÁCH BỆNH NHÂN NGHIÊN CỨU

PHỤ LỤC 4
BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC

PHỤ LỤC 5
BẢN TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CHẾ PHẨM