

EXPERIMENTAL EVALUATION OF SKIN IRRITATION OF SPRAY SOLUTION USED IN THE TREATMENT OF WOUND INJURIES ON SKIN CONTAINING NANO SILVER AND SOME HERBAL MEDICINES

Tran Ba Kien*, Nguyen Thi Thu Huyen

Hai Duong Central College of Pharmacy - 324 Nguyen Luong Bang, Hai Duong City, Hai Duong Province, Vietnam

Received: 07/10/2024

Revised: 28/10/2024; Accepted: 20/01/2025

ABSTRACT

Objective: To evaluate on skin irritation of spray solution used in the treatment of wound injuries on skin containing nano silver and some herbals (Coptis lonicera, polygonum, turmeric).

Method: The methodological research was carried out according to the guidelines of OECD and the Ministry of Health. The gauze patch of 0.5g solution was applied to the appropriate healthy skin of 15 rabbits; after 4 hours by peeling off gauze and cleaning. Evaluation of activation index at 24, 48 and 72h after cleaning.

Results: The application index was 0 (no erythema, scab formation and edema in healthy rabbit skin).

Conclusions: The product does not cause skin irritation on experimental animals.

Keywords: Spray solution used in the treatment of wound injuries, rabbits, skin irritation.

*Corresponding author

Email: huyendkh84@gmail.com **Phone:** (+84) 989206272 **Https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD1.1976**

NGHIÊN CỨU TÍNH KÍCH ỨNG DA CỦA DUNG DỊCH HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ TỔN THƯƠNG HỞ TRÊN DA TỪ NANO BẠC VÀ MỘT SỐ DƯỢC LIỆU TRÊN DA LÀNH CỦA ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Trần Bá Kiên*, Nguyễn Thị Thu Huyền

Trường Cao đẳng Dược Trung ương Hải Dương - 324 Nguyễn Lương Bằng, Tp. Hải Dương, Tỉnh Hải Dương, Việt Nam

Ngày nhận bài: 07/10/2024

Chỉnh sửa ngày: 28/10/2024; Ngày duyệt đăng: 20/01/2025

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tính kích ứng da của dung dịch hỗ trợ điều trị tổn thương da sản xuất từ nano bạc và một số dược liệu (hoàng liên, hoàng đằng, kim ngân hoa, cỏ nhọ nồi, nghệ).

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu được thực hiện theo OECD và hướng dẫn của Bộ Y tế; đánh giá tính kích ứng da tiến hành trên 15 thỏ, đắp gạc tẩm 0,5g dung dịch hỗ trợ điều trị tổn thương hở trên da lên vùng da lành của thỏ; sau 4 giờ bóc bỏ gạc, làm sạch. Đánh giá chỉ số kích ứng sau khi loại bỏ mẫu thử 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ.

Kết quả: Chỉ số kích ứng bằng 0 (không xuất hiện ban đỏ và tạo vảy, không phù nề ở da lành thỏ).

Kết luận: Sản phẩm không gây kích ứng da trên động vật thí nghiệm.

Từ khóa: Dung dịch hỗ trợ điều trị tổn thương hở ở da, thỏ, kích ứng da.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Da là cơ quan quan trọng, chiếm diện tích lớn trong cơ thể. Da chiếm 16% về khối lượng so với tổng khối lượng cơ thể [1]. Các sản phẩm dùng qua da có thể gây các phản ứng kích ứng da như ban đỏ, mẩn ngứa, phù nề... Trong khi các phản ứng có thể rất ít hoặc không có khi tiếp xúc đầu tiên, da sẽ phản ứng với các lần tiếp xúc tiếp sau một cách mạnh mẽ. Phản ứng có thể ở mức độ nghiêm trọng từ một chút khó chịu với mẩn đỏ thoáng qua và ngứa, đến một đợt phát ban nghiêm trọng, lan rộng và có thể gây tàn phế. Đối với các sản phẩm dùng ngoài da, đặc biệt các mỹ phẩm mới, cần phải thử nghiệm để đánh giá khả năng kích ứng và mẫn cảm trên da thực nghiệm trước khi áp dụng trên cơ thể người [2]. Theo quy định của Bộ Y tế Việt Nam, đây cũng là đánh giá bắt buộc về thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu [3].

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm xác định tính kích ứng của sản phẩm xịt hỗ trợ điều trị tổn thương hở ở da được sản xuất từ nano bạc và một số dược liệu với 2 chỉ tiêu đánh giá là phản ứng ban đỏ và tạo vảy, phản ứng phù nề trên da lành của thỏ.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu và đối tượng nghiên cứu

- Nguyên vật liệu: dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương hở ở da, được sản xuất từ nano bạc và một số dược liệu (hoàng đằng, hoàng liên, kim ngân hoa, cỏ nhọ nồi, nghệ). Đây là sản phẩm nghiên cứu của đề tài cấp tỉnh được sản xuất tại Trung tâm Nghiên cứu và Kinh doanh Dược, Trường Cao đẳng Dược Trung ương Hải Dương. Quy cách đóng gói: lọ thủy tinh 30 ml.

- Động vật nghiên cứu: thỏ trắng giống New Zealand trưởng thành cả hai giống đực và cái, khỏe mạnh, thỏ cái không mang thai hoặc cho con bú, chưa trải qua bất kỳ thử nghiệm nào trước đó, cân nặng khoảng 2,0-3,0 kg.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị

Thỏ được nuôi mỗi con một lồng riêng, nuôi dưỡng trong điều kiện thí nghiệm 5 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu, nhiệt độ phòng 25-30°C, ánh sáng bảo đảm 12 giờ tối, 12 giờ sáng hàng ngày trong vòng 1 tuần trước khi tiến hành nghiên cứu. Thỏ được ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi

*Tác giả liên hệ

Email: huyendkh84@gmail.com Điện thoại: (+84) 989206272 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD1.1976>

để nguội) uống tự do.

Thỏ được cạo sạch lông sát da từ giữa lưng sang 2 bên khoảng 10% diện tích da trước khi đặt mẫu thử 24 giờ. Chỉ dùng những con thỏ có da đồng đều, không xây sát.

2.2.2. Thiết kế nghiên cứu

- Số lượng thỏ: 15 con.
- Mức liều mẫu thử nghiệm: 0,5g mẫu thử cho mỗi con thỏ.
- Tiến hành: cân 0,5g mẫu thử dàn đều trên gạc không gây kích ứng đã chuẩn bị, đắp lên một bên da thỏ đã cạo lông, diện tích 2,5 x 2,5 cm. Cố định miếng gạc bằng băng dính không gây kích ứng trong 4 giờ. Bên da lưng đối diện được sử dụng làm chứng, không bôi mẫu thử, chỉ cắt lông. Trong thời gian thử nghiệm, thỏ vẫn ở trạng thái cố định để tránh trường hợp mẫu thử bị chệch khỏi vị trí đặt và phải thường xuyên kiểm tra mẫu đặt.
- Thời gian tiếp xúc: sau 4 giờ tiếp xúc mẫu thử, gỡ bỏ băng dính và gạc, làm sạch mẫu thử còn lại bằng nước tinh khiết. Thao tác cần thực hiện nhẹ nhàng để tránh gây kích ứng trên da thỏ.

2.2.3. Theo dõi, đánh giá

Hàng ngày theo dõi, ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm [3], [4], [5].

- Quan sát và ghi điểm phản ứng trên chỗ da đặt mẫu thử so với da không đặt mẫu thử ở các thời điểm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau khi làm sạch mẫu thử. Có thể theo dõi tối đa 14 ngày.
- Đánh giá phản ứng ban đỏ và tạo vảy, phản ứng phù nề trên da thỏ
- Điểm phản ứng trên mỗi thỏ được tính bằng điểm trung bình tại các thời điểm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ của hai chỉ tiêu sự tạo vảy, ban đỏ và phù nề (theo bảng 1).

Bảng 1. Mức độ phản ứng ở da và điểm đánh giá

Phản ứng		Điểm đánh giá
Ban đỏ, sự tạo vảy	Không ban đỏ	0
	Ban đỏ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
	Ban đỏ nhận thấy rõ	2
	Ban đỏ vừa phải đến nặng	3
	Ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) đến tạo thành vảy để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ	4

Phản ứng		Điểm đánh giá
Phù nề	Không phù nề	0
	Phù nề rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
	Phù nề nhận thấy rõ (viền phù nề phồng lên rõ)	2
	Phù nề vừa phải (da phồng lên khoảng 1 mm)	3
	Phù nề nghiêm trọng (da phồng lên trên 1 mm và lan rộng ra vùng xung quanh)	4
Tổng điểm kích ứng da tối đa		8

- Đánh giá thời gian phục hồi của da.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Đối chiếu điểm kích ứng với các mức độ quy định ở bảng 2 để xác định khả năng gây kích ứng trên da thỏ của mẫu thử.

Bảng 2. Phân loại kích ứng mức độ trên da thỏ

Loại kích ứng	Điểm trung bình
Kích ứng không đáng kể	0-0,5
Kích ứng nhẹ	> 0,5-2,0
Kích ứng vừa phải	> 2,0-5,0
Kích ứng nghiêm trọng	> 5,0-8,0

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Mức độ tạo vảy và ban đỏ trên da thỏ

Bảng 3. Mức độ tạo vảy và ban đỏ trên da thỏ

Thỏ	Điểm đánh giá			Thỏ	Điểm đánh giá		
	24 giờ sau gỡ tấm gạc	48 giờ sau gỡ tấm gạc	72 giờ sau gỡ tấm gạc		24 giờ sau gỡ tấm gạc	48 giờ sau gỡ tấm gạc	72 giờ sau gỡ tấm gạc
1	0	0	0	9	1	0	0
2	1	0	0	10	0	0	0
3	0	0	0	11	0	0	1
4	0	0	1	12	0	0	0
5	0	0	0	13	0	0	0
6	0	0	0	14	0	0	0
7	0	0	0	15	0	0	0
8	0	0	0				

Tại thời điểm sử dụng sản phẩm: trên 15 thỏ đều không xuất hiện ban đỏ từ mức độ nhận thấy rõ đến mức độ nghiêm trọng nên sản phẩm không gây kích ứng trên da thỏ và không có hiện tượng tạo vảy tại thời điểm 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ sau gỡ tấm gạc.

Tại thời điểm ngày thứ 4 sau nghiên cứu, da ở phần sử dụng dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương tất cả các thỏ đều không có biểu hiện kích ứng nào nên không tiếp tục theo dõi và không làm giải phẫu bệnh.

3.2. Mức độ phù nề trên da thỏ

Bảng 4. Mức độ phù nề trên da thỏ

Thỏ	Điểm đánh giá			Thỏ	Điểm đánh giá		
	24 giờ sau gỡ tấm gạc	48 giờ sau gỡ tấm gạc	72 giờ sau gỡ tấm gạc		24 giờ sau gỡ tấm gạc	48 giờ sau gỡ tấm gạc	72 giờ sau gỡ tấm gạc
1	0	0	0	9	0	0	0
2	0	0	0	10	0	0	0
3	0	0	0	11	0	0	0
4	0	0	0	12	0	0	0
5	0	0	0	13	0	0	0
6	0	0	0	14	0	0	0
7	0	0	0	15	0	0	0
8	0	0	0				

Tại các thời điểm đánh giá, không có bất kỳ phản ứng phù nề nào được ghi nhận. So sánh vị trí da đặt mẫu thử dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương da với vị trí trên da bình thường của thỏ không có sự thay đổi.

Biểu hiện toàn thân thỏ trong quá trình nghiên cứu: không có thỏ chết trong nghiên cứu. Tại các thời điểm nghiên cứu, tất cả thỏ đều khỏe mạnh, hoạt động bình thường, không có biểu hiện mất ngủ, gãi vào vị trí đặt tấm gạc thuốc. Thỏ ăn uống, sinh hoạt, ngủ... bình thường. Không xuất hiện các rối loạn tiêu hóa (ỉa chảy, tăng tiết nước bọt...), rối loạn các hoạt động và hành vi vận động (run, co giật, rối loạn giấc ngủ, hôn mê).

Tổng số điểm kích ứng tối đa của 15 thỏ là bằng 0. Đối chiếu với phân loại mức độ kích ứng trên da thỏ: mẫu thử dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương da được xếp vào loại kích ứng không đáng kể.

4. BÀN LUẬN

Dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương da là sản phẩm nghiên cứu mới, chứa những thành phần như nano bạc và một số dược liệu (nghệ, kim ngân hoa, cỏ nhọ nồi, hoàng đằng, hoàng liên) là hướng đi phù hợp với sự phát triển của ngành Dược. Do vậy, cần có đánh giá tính kích ứng trên da lành (nghiên cứu tiền lâm sàng) theo đúng quy định của Bộ Y tế Việt Nam.

4.1. Lựa chọn động vật đánh giá

Trong các nghiên cứu đánh giá kích ứng da trên thế giới cũng như ở Việt Nam thường được khuyến cáo nên tiến hành trên da có tính mẫn cảm cao. Trong các động vật thí nghiệm thì da thỏ mỏng và nhạy cảm nhất, do đó da thỏ thường dễ kích ứng hơn da người. Vì vậy, khi tính kích ứng trên da thỏ bằng 0 thì gần như chắc chắn sẽ không có hiện tượng kích ứng trên da người (ban đỏ, phù nề).

4.2. Mô hình thử nghiệm

- Diện tích đánh giá: trong nghiên cứu này chúng tôi đã áp dụng phương pháp đối với mẫu thử dạng lỏng là tấm trong gạc, đắp lên da lành thỏ với diện tích $2,5 \times 2,5$ cm (khoảng 6 cm²); sau đó cố định theo hướng dẫn của OECD [5].

- Thời gian tiếp xúc: theo quy định thường là 4 giờ, nên trong nghiên cứu này cũng tiến hành thử trong 4 giờ, sau đó sử dụng nước tinh khiết nhẹ nhàng rửa sạch vùng da, bảo đảm không gây tổn thương, không làm thay đổi tình trạng hiện có vùng da tiếp xúc.

- Mức liều: chúng tôi áp dụng một liều 0,5g mẫu thử cho vị trí thử nghiệm.

- Giai đoạn thử nghiệm: OECD đặc biệt khuyến nghị thử nghiệm thăm dò ban đầu, đặc biệt là khi nghi ngờ chất có khả năng ăn mòn. Trong những trường hợp mà chất thử được cho là không tạo ra ăn mòn, có thể tiến hành theo mô hình thử nghiệm đã xây dựng. Trong nghiên cứu, chúng tôi đã tiến hành theo phương pháp này, khi thử thăm dò trên 1 con thỏ không có hiện tượng ban đỏ hoặc phù nề, từ đó chúng tôi đã tiến hành thử trên 15 thỏ.

4.3. Kết quả chỉ số kích ứng da

Trong nghiên cứu, tất cả thỏ ở các giai đoạn đều không có hoạt động bất thường; tất cả thỏ đều khỏe mạnh, hoạt động bình thường, không có biểu hiện mất ngủ, gãi vào vị trí đặt tấm gạc thuốc. Thỏ ăn uống, sinh hoạt, ngủ... bình thường. Không xuất hiện các rối loạn tiêu hóa (ỉa chảy, tăng tiết nước bọt...), rối loạn các hoạt động và hành vi vận động (run, co giật, rối loạn giấc ngủ, hôn mê).

Đánh giá tính kích ứng da của sản phẩm dung dịch xịt

hỗ trợ điều trị tổn thương da rất quan trọng đối với một chế phẩm dùng trên da để điều trị vết thương tại chỗ, đặc biệt đối với các vết thương bỏng, vết thương hở, vì đây là tổn thương làm cho da trở nên rất nhạy cảm, việc sử dụng các chế phẩm điều trị có độ kích ứng không phù hợp không chỉ gây đau đớn, khó chịu cho bệnh nhân, mà còn có thể gây ra tổn thương hoặc làm nặng thêm viêm loét vốn có hoặc làm nặng nề thêm tình trạng hoại tử từ các tổn thương.

Kết quả nghiên cứu cho thấy không ghi nhận bất cứ phản ứng tạo vảy da, ban đỏ nhận thấy được và không có hiện tượng phù nề nào trên tất cả thử nghiệm ở các thời điểm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau gỡ bỏ mẫu thử. Vảy da được hình thành để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ và xuất hiện ở phản ứng mức độ ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) nên không ghi nhận vảy da là hợp lý.

Kết quả đồng thời cũng cho thấy không có các biểu hiện thay đổi khác (thay đổi màu sắc da, mụn nước, bong nước, khô da...) trên da thử tại các vùng da đặt mẫu thử trong 3 ngày quan sát.

Với tổng số điểm kích ứng da bằng 0, tương ứng với loại kích ứng da không đáng kể. Da thử nhạy cảm hơn so với da người, nên có thể khẳng định cho phép sử dụng dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương da trên người.

5. KẾT LUẬN

Sử dụng dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương da trên da thử liều 0,5g mẫu thử cho 1 vị trí thử nghiệm với thời gian tiếp xúc trong 4 giờ. Quan sát da thử ở các thời điểm sau khi loại bỏ mẫu thử 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ, đều không thấy xuất hiện phản ứng ban đỏ và tạo vảy cũng như phản ứng phù nề. Căn cứ vào điểm quy đổi thì tổng số điểm kích ứng da của dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương da bằng 0, tương ứng với loại không gây kích ứng da.

Với kết quả trên, dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương hở ở da, sản xuất từ nano bạc và một số dược liệu (hoàng đằng, hoàng liên, kim ngân hoa, cỏ nhọ nồi, nghệ) không gây kích ứng trên động vật thực nghiệm, có thể cho phép sử dụng dung dịch xịt hỗ trợ điều trị tổn thương da trên người.

LỜI CẢM ƠN

Để thực hiện và hoàn thành đề tài nghiên cứu khoa học này, nhóm nghiên cứu đã nhận được sự hỗ trợ, giúp đỡ cũng như sự quan tâm, động viên từ nhiều cơ quan, tổ chức và cá nhân.

Trước hết, nhóm nghiên cứu xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Hải Dương đã đồng ý và tạo điều kiện thực hiện đề tài này.

Xin trân trọng cảm ơn Ban Giám hiệu cùng toàn thể các thầy cô giáo Trường Cao đẳng Dược Trung ương Hải Dương đã tận tình và tạo điều kiện về vật chất, tinh thần giúp đỡ nhóm nghiên cứu trong quá trình nghiên cứu.

Tuy có nhiều cố gắng, nhưng đề tài nghiên cứu khoa học này không tránh khỏi những thiếu sót. Nhóm nghiên cứu kính mong các chuyên gia, những người quan tâm đến nghiên cứu khoa học tiếp tục có những ý kiến đóng góp, giúp đỡ để nghiên cứu khoa học được hoàn thiện hơn.

Một lần nữa xin chân thành cảm ơn!

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Jasmie Eske, what to know about open wound care, Medical News today, 2019.
- [2] Yullya S, Mulyanti, Yuliarni, Busarin Kasemchainan, Partha P, Mitra, Paul Evans, Haryono Hartono, Evaluation of the Skin Irritation and Sensitization Potential of the Cussons Baby Sensicare Skin Range of Products in Healthy Volunteers, Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications, vol. 9, No.3, September 2019.
- [3] Cục Khoa học Công nghệ và Đào tạo - Bộ Y tế, Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT về việc ban hành tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu”, ngày 27 tháng 10 năm 2015
- [4] Parth Patel, A bird's eye view on a therapeutically 'wonder molecule': berberine, phytomedicine plus, volume 1, issue 3, August 2021, 100070.
- [5] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No.404: Acute Skin Irritation/Corrosion, Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development, 2002.
- [6] Bộ Y tế, Quyết định số 3113/1999/QĐ-BYT ban hành Tiêu chuẩn giới hạn vi khuẩn, nấm mốc trong mỹ phẩm và phương pháp thử kích ứng trên da, ngày 11 tháng 10 năm 1999.