

TÍNH KHÁNG KHUẨN ENTEROCOCCUS FAECALIS CỦA DUNG DỊCH NANO BẠC VÀ KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG NANO BẠC TRONG ĐIỀU TRỊ NỘI NHA

Trần Duy Tùng¹, Huỳnh Hữu Thực Hiền¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: (1) Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của dung dịch AgNPs kích thước 5-7 nm đối với vi khuẩn *E. faecalis*. (2) Đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch AgNPs ở nồng độ diệt khuẩn tối thiểu đối với vi khuẩn *E. faecalis* được nuôi cấy trong chân răng 21 ngày. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu in vitro thực nghiệm gồm có 2 phần. Phần 1: Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của dung dịch AgNPs bằng phương pháp pha loãng vi nồng độ trên đĩa vi phiến. Sau đó xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của AgNPs theo phương pháp cấy khuẩn trên đĩa thạch và phương pháp xét nghiệm Real-time PCR. Phần 2: Nuôi cấy vi khuẩn *E. faecalis* trong chân răng 21 ngày sau đó thực hiện bơm rửa với các loại dung dịch: nhóm A (10 răng) bơm rửa nước muối sinh lý; nhóm B (10 răng) bơm rửa dung dịch AgNPs ở nồng độ diệt khuẩn tối thiểu được xác định từ phần 1. Lấy mẫu vi khuẩn sau bơm rửa bằng côn giấy thấm trong ống tủy, thực hiện xét nghiệm Real-time PCR. So sánh chỉ số Ct trung bình giữa hai nhóm để đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch AgNPs ở nồng độ diệt khuẩn tối thiểu đối với vi khuẩn *E. faecalis* được nuôi cấy trong chân răng 21 ngày. **Kết quả:** Nồng độ ức chế tối thiểu của dung dịch AgNPs được xác định bằng kỹ thuật pha loãng trên đĩa vi phiến là 62,5 ppm. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của dung dịch AgNPs được xác định theo phương pháp cấy khuẩn trên đĩa thạch và phương pháp xét nghiệm Real-time PCR là 62,5 ppm. Đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của các dung dịch bơm rửa trong chân răng có nuôi cấy vi khuẩn *E. faecalis* 21 ngày cho thấy dung dịch AgNPs 62,5 ppm có hiệu quả kháng khuẩn tương tự dung dịch NaCl 0,9 % ($p > 0,05$). **Kết luận:** Nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của dung dịch AgNPs kích thước 5-7 nm là 62,5 ppm. Hiệu quả kháng khuẩn *E. faecalis* được nuôi cấy trong chân răng 21 ngày của dung dịch AgNPs 62,5 ppm tương đương dung dịch NaCl 0,9%. **Từ khóa:** nano bạc, nội nha, *Enterococcus faecalis*

SUMMARY

THE ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF SILVER NANOPARTICLES AGAINST ENTEROCOCCUS FAECALIS AND THE POSSIBILITY OF APPLYING NANO SILVER IN ENDODONTIC TREATMENT

¹Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Huỳnh Hữu Thực Hiền

Email: hhthien@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 11.3.2024

Ngày phản biện khoa học: 17.4.2024

Ngày duyệt bài: 21.5.2024

Objectives: (1) To determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of AgNPs (5 - 7 nm) solution against *E. faecalis* bacteria. (2) Evaluate antibacterial effectiveness of AgNPs solution at the minimum bactericidal concentration against *E. faecalis* cultured in tooth roots for 21 days. **Method:** This in vitro study consisted of two parts. Part 1: Determining the minimum inhibitory concentration of AgNPs solution using the microdilution method on a microplate plate. Then determine the minimum bactericidal concentration of AgNPs according to the bacteria culture method on agar plates and the Real-time PCR testing method. Part 2: Irrigation the roots which were cultured of *E. faecalis* bacteria for 21 days with following solutions: group A (10 teeth) irrigated with 0.9% NaCl; group B (10 teeth) irrigated with AgNPs solution at minimum bactericidal concentration. Take a bacterial sample after irrigation with an absorbent paper cone in the root canal and perform a Real-time PCR test. Compare the average Ct index of the groups to evaluate the antibacterial effectiveness of AgNPs solution at the minimum bactericidal concentration against *E. faecalis* bacteria cultured in tooth roots for 21 days. **Results:** The minimum inhibitory concentration of AgNPs solution determined by microplate dilution technique was 62.5 ppm. The minimum bactericidal concentration of AgNPs solution determined by the bacteria culture method on agar plates and Real-time PCR testing method is 62.5 ppm. Results of irrigation in the tooth root after culturing *E. faecalis* bacteria for 21 days showed that 62.5 ppm AgNPs solution was as effective against *E. faecalis* bacteria as 0.9 % NaCl solution ($p > 0.05$). **Conclusion:** The minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of AgNPs (5 - 7 nm) solution is 62.5 ppm. The antibacterial effect against *E. faecalis* was cultured in tooth roots for 21 days of 62.5 ppm AgNPs solution equivalent to 0.9 % NaCl solution. **Keywords:** Silver, Nanoparticles, endodontic, *Enterococcus faecalis*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm trùng nội nha được coi là nhiễm trùng đa vi khuẩn. Trong số các vi khuẩn kỵ khí thường được phát hiện trong các nhiễm trùng dai dẳng, *Enterococcus faecalis* là vi khuẩn phổ biến nhất, được phát hiện trong khoảng 20% - 30% trường hợp nhiễm trùng nguyên phát và 67% - 77% trường hợp nhiễm trùng thứ phát.^{1,2}

Hiện nay, ngoài các dung dịch bơm rửa kháng khuẩn truyền thống như Natri hypochlorit (NaOCl) và Chlorhexidine (CHX), các hạt nano bạc (AgNPs) đã được nghiên cứu và ứng dụng để khử khuẩn hệ thống ống tủy dưới dạng thuốc đặt trong ống

tủy và dung dịch bơm rửa ống tủy.³⁻⁵

Để xác định hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch AgNPs đối với vi khuẩn *E. faecalis* nhằm hướng tới ứng dụng trong điều trị nội nha, chúng tôi thực hiện đề tài: "Nghiên cứu *in vitro* hiệu quả diệt khuẩn *Enterococcus faecalis* của dung dịch nano bạc trong bơm rửa nội nha".

Mục tiêu nghiên cứu:

1. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của dung dịch AgNPs đối với vi khuẩn *E. faecalis*.

2. Đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch AgNPs ở nồng độ MBC đối với vi khuẩn *E. faecalis* được nuôi cấy trong chân răng 21 ngày.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đây là một phần của đề tài nghiên cứu được chấp thuận theo quyết định số 691/HĐĐĐ-ĐHYD của hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh Đại học Y Dược TP.HCM.

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Vi khuẩn *E. faecalis* ATCC 29212

Tiêu chí chọn lựa: - Vi khuẩn được lưu trữ, có đầy đủ các thông tin cần thiết

- Đã được nuôi cấy, định danh

Tiêu chí loại trừ: - Vi khuẩn đã được lựa chọn bị chết hoặc biến đổi tính chất sinh vật, hóa học, hoặc không đủ thông tin.

2.1.2. Răng cối nhỏ hàm dưới

Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu ngẫu nhiên thuận tiện không xác suất

Tiêu chí chọn mẫu:

- Răng cối nhỏ có chỉ định nhổ do điều trị chỉnh hình răng mặt và bệnh nhân đồng ý với chỉ định

- Răng cối nhỏ hàm dưới, có 1 chân răng và 1 ống tủy

- Thân răng còn nguyên, chưa điều trị nội nha, không có miếng trám hay lỗ sâu, vết nứt

- Chóp chân răng đã trưởng thành

- Ống tủy không bị can – xi hóa (các ống tủy được kiểm tra bằng trám nội nha K – file số 15)

- Răng có chiều dài từ chóp chân răng đến đường nối men – xê măng tối thiểu 10,0 mm

Tiêu chí loại trừ:

- Đánh giá trên phim quanh chóp, các răng không có ống tủy dạng I theo Vertucci 1984

- Chân răng bị nội tiêu hoặc ngoại tiêu

- Chân răng bị dị dạng

- Chân răng bị thiếu chóp

2.2. Vật liệu và trang thiết bị: -Dung dịch AgNPs 500 ppm, kích thước 5 nm – 7 nm (Công ty TNHH Hóa Sinh Môi Trường Bình Lan)

- Nước muối sinh lý (NaCl 0,9 %)

- Chất nhuộm màu vi khuẩn Resazurin

- Đĩa vi khuẩn 96 giếng vô khuẩn

- Môi trường MHB (Miller – Hinton Broth)

2.3. Quy trình nghiên cứu

Phần 1: Xác định MIC và MBC của dung dịch AgNPs

a) Chuẩn bị vi khuẩn *E. faecalis*. Hydrate và hoạt hóa vi khuẩn *E. faecalis* ATCC 29212 đông khô, điều chỉnh canh thang để đạt mật độ vi khuẩn là 10^8 CFU/ml.

b) Pha loãng dung dịch nano bạc trên đĩa vi khuẩn. Chuẩn bị đĩa vi khuẩn 96 giếng (Hình 1): Thứ tự từ trái sang phải tương ứng với cột số 1 đến cột số 12 và từ trên xuống dưới tương ứng với các hàng từ A đến H (8 hàng), ghi tên dung dịch thử nghiệm trên đĩa vi khuẩn. Mỗi hàng trên đĩa vi khuẩn ứng với một lần thử nghiệm cho mỗi mẫu, như vậy 8 hàng trên đĩa vi khuẩn tương ứng với 8 lần thử nghiệm cho mỗi mẫu, trong đó ở mỗi hàng dung dịch nano bạc được pha loãng bậc 2 thành dãy 10 nồng độ từ nồng độ gốc ban đầu là 500 ppm với dung môi pha loãng là môi trường MHB.

Quy trình pha loãng cụ thể như sau:

- Sử dụng pipet 8 kênh hút 100 μ L môi trường dinh dưỡng MHB có chất nhuộm Resazurin vào các giếng từ cột 1 đến cột 12. Tại các giếng ở cột 1 thêm 100 μ L dung dịch AgNPs 500 ppm, trộn đều với môi trường MHB.

- Hút 100 μ L dung dịch ở cột 1 sang cột 2, trộn đều. Lặp lại tương tự và kết thúc ở cột 11, cột 12 không có dung dịch AgNPs được dùng làm nhóm chứng dương.

- Dung dịch AgNPs sau khi được pha loãng có nồng độ từ 250 ppm (cột 1) đến 0,488 ppm (cột 10).

c) Cấy vi khuẩn *E. faecalis* trên vi khuẩn. Lấy 10 μ L huyền dịch vi khuẩn *E. faecalis* ở mật độ 10^8 CFU/ml cho vào các giếng từ cột số 1 đến cột số 10 và cột nhóm chứng dương số 12, các giếng ở cột số 11 không cấy vi khuẩn được sử dụng làm nhóm chứng âm. Sau 24 giờ, lấy mẫu và đọc kết quả.

d) Đọc kết quả nồng độ ức chế tối thiểu. Nhóm chứng dương có vi khuẩn mọc, các giếng có màu hồng. Nhóm chứng âm không có vi khuẩn mọc, các giếng có màu xanh dương.

Quan sát màu sắc của các giếng còn lại, giếng màu xanh dương bên cạnh giếng màu hồng được xác định là giếng có nồng độ ức chế tối thiểu của dung dịch AgNPs.

e) Xác định nồng độ diệt khuẩn tối thiểu. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của dung dịch AgNPs được xác định theo 2 phương pháp như sau:

Cấy khuẩn trên đĩa thạch: Lấy 50 μ L huyền

dịch ở tất cả các giếng bên trái cột có chứa dung dịch AgNPs ở nồng độ ức chế tối thiểu đem cấy trên đĩa thạch dinh dưỡng. Sau đó ủ đĩa ở 37 °C trong 24 giờ, lấy các đĩa ra đọc kết quả. Đĩa không có vi khuẩn mọc tương ứng với giếng có chất khử khuẩn ở nồng độ thấp nhất được ghi nhận là nồng độ diệt khuẩn tối thiểu.

Xét nghiệm real – time PCR: Lấy 50 µL huyền dịch ở tất cả các giếng bên trái cột có chứa dung dịch AgNPs ở nồng độ ức chế tối thiểu và huyền dịch ở các giếng thuộc cột nhóm chứng dương (cột 12) trên vi phiến, đưa huyền dịch vào ống nhựa Eppendorf và làm xét nghiệm real – time PCR. Phân tích chỉ số Ct trung bình các giếng cùng nồng độ, các giếng có chất khử khuẩn ở nồng độ thấp nhất có chỉ số Ct trung bình cao hơn Ct trung bình ở cột nồng độ ức chế tối thiểu và cột chứng dương được ghi nhận là nồng độ diệt khuẩn tối thiểu.

Phần 2: Đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của dung dịch AgNPs đối với vi khuẩn E. faecalis được nuôi cấy trong chân răng 21 ngày

a) Chuẩn bị mẫu răng

Bước 1: Đồng nhất chiều dài chân răng

Định vị chiều dài chân răng tính từ chóp đến cổ răng, đánh dấu ở vị trí 10,0 mm. Dùng đĩa cắt kim cương cắt ở vị trí đã đánh dấu. Lấy tủy bằng trâm gai.

Bước 2: Xác định chiều dài làm việc

Dùng trâm K – file số 15 vô khuẩn cho vào ống tủy cho đến khi nhìn thấy trâm xuất hiện ở lỗ chóp chân răng. Sau đó lùi lại 1,0 mm, ghi nhận chiều dài làm việc của mỗi chân răng là 9 mm.

Bước 3: Sửa soạn ống tủy

Theo kỹ thuật bước lùi bằng trâm K-file số 15-80. Bơm rửa bằng nước cất trong quá trình sửa soạn. Sau đó mỗi ống tủy được bơm đầy dung dịch EDTA 17 % trong 3 phút rồi rửa sạch với dung dịch NaCl 0,9 %, tiếp đến là Natri Hypoclorit 3 % trong 5 phút. Mỗi ống tủy tiếp tục được bơm rửa với nước cất, sau đó thấm khô bằng côn giấy vô khuẩn.

Bước 4: Ngăn chặn vi khuẩn ra khỏi chóp răng

Dùng Composite Filtek Z250 trám vùng lỗ chóp chân răng. Sau đó bôi thêm 2 lớp sơn bóng bên ngoài chân răng, để khô trong 24 giờ.

Bước 5: Vô khuẩn các ống tủy

Nhồi cao su putty vào các ống nhựa Eppendorf, chôn các chân răng vào khối cao su. Sau đó, tất cả các ống nhựa chứa chân răng được hấp diệt trùng ở 121 °C trong 20 phút.

Bước 6: Gây nhiễm khuẩn ống tủy chân răng:

Trộn đều huyền dịch vi khuẩn, dùng đầu hút

vi thể bán tự động bơm 20 µL huyền dịch vào mỗi ống tủy. Dùng trâm K – file số 15 vô khuẩn được đưa vào ống tủy – có nút chặn cao su ở đúng chiều dài làm việc (9 mm), đưa trâm tới lui để môi trường BHI và huyền dịch vi khuẩn đến được vùng chóp răng.

Nuôi vi khuẩn trong các mẫu răng ở nhiệt độ 37°C trong 21 ngày, thêm môi trường BHI vô khuẩn sau mỗi 48 giờ.

b) Phân nhóm thử nghiệm:

- Nhóm A (Nhóm chứng): 10 răng được bơm rửa với nước muối sinh lý NaCl 0,9 %

- Nhóm B (Nhóm thử nghiệm): 10 răng được bơm rửa với dung dịch AgNPs nồng độ MBC

Tiến hành bơm rửa các răng trong mỗi nhóm với các dung dịch bơm rửa theo quy cách sau: Lấy 2 ml dung dịch bơm rửa bằng ống bơm 5 ml vô khuẩn với kim bơm rửa 30 G. Đưa kim bơm rửa đến vị trí vừa chặt trong ống tủy sau đó lùi lại 1 mm và bơm với vận tốc 2 ml/phút. Thời gian bơm rửa 1 phút cho mỗi răng và thay kim mới cho mỗi răng.

c) Lấy mẫu vi khuẩn trong ống tủy sau khi bơm rửa:

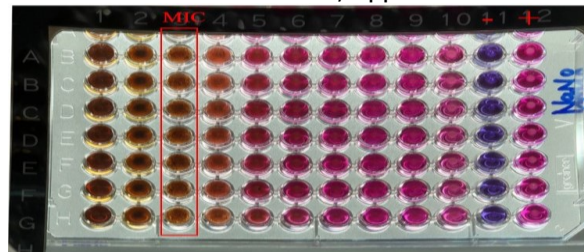
Dùng trâm K – file số 25 vô khuẩn đưa vào ống tủy đến chiều dài làm việc (9 mm), vừa xoay theo chiều kim đồng hồ 3 vòng vừa rút ra, sau đó tất cả các ống tủy được bơm đầy dung dịch NaCl 0,9 % thêm lần nữa.

Đưa lần lượt 3 cây côn giấy vô khuẩn số 25 vào mỗi ống tủy đến chiều dài tương đương với chiều dài làm việc của mỗi ống tủy. Mỗi côn giấy được để yên trong 1 phút rồi lấy ra, côn giấy tiếp theo được đưa vào.

Côn giấy được chuyển vào ống nhựa có chứa sẵn 2 ml dung dịch nước muối sinh lý. Sau đó các ống nhựa được trộn đều bằng máy Vortex trong 1 phút và đưa đi xét nghiệm nghiệm Real – time PCR tại Công ty TNHH Nam Khoa Biotek.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nồng độ ức chế tối thiểu của dung dịch nano bạc. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của dung dịch nano bạc có kích cỡ hạt bạc 5–7nm đối với E. faecalis là 62,5 ppm.



Hình 1. Vi phiến chứa dung dịch AgNPs và vi khuẩn sau khi ủ 24 giờ

Sau khi ủ 24 giờ ở 37°C trong môi trường nuôi cấy MHB có chất nhuộm Resazurin, các giếng của cột chứng dương (cột 12) đều có vi khuẩn mọc được thể hiện bằng màu hồng và các giếng ở cột chứng âm (cột 11) không có vi khuẩn mọc được thể hiện bằng màu xanh dương. Từ cột 5 đến cột 10, tất cả các giếng đều có vi khuẩn mọc. Cột 1 đến cột 4 đáy giếng có kết tủa của dung dịch AgNPs và bị ảnh hưởng bởi màu sắc của dung dịch AgNPs, tuy nhiên tại cột 4 màu sắc của các giếng có xen lẫn màu hồng, điều này chứng tỏ có vi khuẩn mọc. Từ đó xác định MIC là 62,5 ppm. (Xem hình 1)

3.2. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu xác định theo phương pháp cấy khuẩn trên đĩa thạch. Bằng phương pháp cấy khuẩn trên đĩa thạch, MBC của dung dịch AgNPs được xác định tại vị trí cột 3 tương ứng với nồng độ là 62,5 ppm (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả cấy E. faecalis trên đĩa thạch của dung dịch AgNPs

	Số khuẩn vi khuẩn TB (CFU)
Cột 1 (250ppm)	0
Cột 2 (125ppm)	0
Cột 3 (62,5ppm)	0
Cột 4 (31,25ppm)	17,00 ± 7,13

3.3. Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu xác định theo kỹ thuật Real-time PCR. Kết quả real – time PCR cho thấy chỉ số Ct trung bình (TB) của cột 3 là 25,97 ± 0,35, Ct TB của cột 4 là 21,13 ± 0,36, cột 1 và cột 2 không thực hiện được xét nghiệm real – time PCR (N/A). So sánh với Ct TB cột 12 là 18,89 ± 0,27, chỉ số Ct TB cột 3 và 4 đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với cột 12 ($p < 0,05$), chỉ số Ct TB của cột 3 cao hơn cột 4 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), do đó MBC của dung dịch AgNPs được xác định tương ứng ở cột 3 là 62,5 ppm (Bảng 2).

Bảng 2. So sánh Ct trung bình các giếng cùng nồng độ AgNPs

	Ct TB ± ĐLC	
Cột 1 (250 ppm)	N/A	P < 0,05
Cột 2 (125 ppm)	N/A	
Cột 3 (62,5 ppm)	25,97 ± 0,35	P < 0,05
Cột 4 (31,25 ppm)	21,13 ± 0,36	
Cột 12 (0 ppm)	18,89 ± 0,27	

N/A: Không thực hiện được; Phép kiểm ANOVA One – Way & Post hoc Tukey test

3.4. Kết quả thử nghiệm bơm rửa ống tủy. Kết quả thử nghiệm bơm rửa ống tủy và lấy dịch thấm bằng cone giấy đưa vào các ống tủy sau bơm rửa với 2 ml các loại dung dịch khử khuẩn trong thời gian 1 phút, xác định được:

- Chỉ số Ct trung bình của nhóm bơm rửa bằng dung dịch nước muối sinh lý 0,9 % (nhóm A) là 21,82, thấp nhất là 21,14 và cao nhất là 22,82.

- Chỉ số Ct trung bình của nhóm bơm rửa bằng dung dịch nano bạc 62,5 ppm (Nhóm B) là 22,33, thấp nhất là 20,44 và cao nhất là 23,21.

Chỉ số Ct trung bình của nhóm A – bơm rửa nước muối sinh lý và nhóm B – bơm rửa dung dịch nano bạc không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$, phép kiểm Wilcoxon).

IV. BÀN LUẬN

Khả năng kháng khuẩn E. faecalis của dung dịch nano bạc. So với các nghiên cứu khác về MIC đối với vi khuẩn E. faecalis của dung dịch AgNPs thì dung dịch AgNPs kích thước hạt nano 5 nm – 7 nm được sử dụng trong nghiên cứu này có giá trị MIC và MBC bằng nhau và bằng 62,5 ppm, thấp hơn nhiều so với giá trị MIC trong nghiên cứu của Krishnan⁶ (2015) và Ramkumar⁷ (2017). Sự khác nhau này có thể là do kích thước của các hạt AgNPs, hạt AgNPs càng nhỏ thì khả năng kháng khuẩn càng tốt⁸ và do đó MIC và MBC càng thấp. Ngoài ra, mật độ vi khuẩn ban đầu được cho vào thử nghiệm cũng đã được chứng minh là có ảnh hưởng đến nồng độ ức chế tối thiểu của dung dịch AgNPs,⁹ điều này có thể giải thích tại sao MIC của dung dịch AgNPs trong nghiên cứu này cao hơn so với MIC trong nghiên cứu của Cui và cs¹⁰ (2020) (Bảng 3).

Bảng 3. So sánh MIC của một số nghiên cứu

Tác giả (năm)	MIC	Kích thước AgNPs	Mật độ vi khuẩn (CFU/ml)
Krishnan ⁶ (2015)	5000 ppm	45-50 nm	10 ⁸
Ramkumar ⁷ (2017)	250 ppm	17-27 nm	10 ⁵
Cui ¹⁰ (2020)	20 ppm	34,49 ± 9,37 nm	10 ⁵

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã thử nghiệm khả năng kháng khuẩn của dung dịch AgNPs 62,5 ppm lên vi khuẩn E. faecalis được ủ 21 ngày trong ống tủy răng người, kết quả cho thấy dung dịch AgNPs 62,5 ppm chỉ có hiệu quả kháng khuẩn tương tự nước muối sinh lý ($p > 0,05$). Điều này cho thấy nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của dung dịch AgNPs đối vi khuẩn ở trạng thái phù du thì không đủ hiệu quả đối với vi khuẩn trong màng sinh học trong ống tủy. Màng sinh học có cấu trúc phức tạp giúp bảo vệ vi khuẩn khỏi các ion bạc và hạt AgNPs bằng cách cản trở sự vận chuyển của chúng. Kết quả của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu của Rodrigues (2018) cho thấy dung dịch AgNPs

không có hiệu quả kháng màng sinh học vi khuẩn *E. faecalis*. Trái lại, kết quả của Kushwaha⁵ (2018) cho thấy dung dịch AgNPs làm giảm đáng kể vi khuẩn *E. faecalis* so với nhóm bơm rửa với dung dịch NaCl 0,9%, tuy nhiên cũng không tiêu diệt hoàn toàn vi khuẩn *E. faecalis*.

Khác với các chất kháng sinh hay chất diệt khuẩn thông thường, AgNPs có trọng lượng phân tử lớn, là tập hợp của nhiều nguyên tử bạc, do vậy khả năng phân tán, tiếp xúc cũng như thẩm thấu qua thành tế bào vi khuẩn chậm hơn, do đó thời gian bơm rửa cũng là nguyên nhân làm ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn thời gian bơm rửa 1 phút, ngắn hơn thời gian bơm rửa của Kushwaha (3 phút). Ngoài ra, chúng tôi sử dụng dung dịch AgNPs 62,5 ppm, thấp hơn so nồng độ dung dịch AgNPs trong các nghiên cứu của Kushwaha (100 ppm), điều này góp phần làm giảm hiệu quả của dung dịch AgNPs.

Giải thích về cơ chế kháng khuẩn của nano bạc. Tác dụng kháng khuẩn của AgNPs là do các hạt AgNPs liên tục giải phóng ion bạc (Ag^+) trong môi trường nước. Các Ag^+ có ái lực cao với các nhóm cho điện tử (như các nhóm Sulfydryl, Amino, Imidazole, Phosphate và Carbonyl), nằm dày đặc trên màng tế bào hoặc protein trong tế bào. Vì vậy, AgNPs có thể tác động lên tế bào vi khuẩn theo nhiều cách khác nhau. Các Ag^+ có thể bám vào thành và màng tế bào chất thông qua lực hút tĩnh điện hoặc bám vào lưu huỳnh có trong các protein, từ đó làm tăng tính thấm của màng tế bào và làm hỏng cấu trúc protein. Sau đó các Ag^+ tự do xâm nhập vào tế bào, làm gián đoạn các phân tử ATP, từ đó ngăn chặn sự sao chép ADN hoặc hình thành các gốc oxy tự do (ROS). Hơn nữa, AgNPs còn làm thay đổi tác dụng của phosphotyrosine, làm suy yếu khả năng truyền tín hiệu giữa các bào quan. Tất cả các cơ chế này đều dẫn đến quá trình oxy hóa trong tế bào và tăng số lượng gốc oxy tự do, hoặc làm ly giải tế bào do sự biến tính protein. Ngoài ra, AgNPs còn làm mất ổn định màng tế bào vi khuẩn, tăng tính thấm và gây rò rỉ các thành phần tế bào.

Ứng dụng của nano bạc trong điều trị nội nha. Khả năng kháng khuẩn của AgNPs đặc biệt là đối với vi khuẩn *E. faecalis* có thể ứng dụng trong những cách thức khác như thuốc đặt trong ống tủy, dung dịch bơm rửa phụ trợ. Theo các nghiên cứu của Sadek³ (2019) cho thấy Gel AgNPs được sử dụng làm thuốc đặt trong ống tủy có hiệu quả diệt màng sinh học vi khuẩn *E. faecalis*, có thể ứng dụng trong nội nha tái tạo;

và hiệu quả diệt màng sinh học *E. faecalis* tăng⁴ khi gel AGNPs kết hợp với $Ca(OH)_2$ và CHX.

Nghiên cứu của Charannya (2018) cho thấy dung dịch AgNPs nồng độ 15 $\mu g/ml$ kết hợp với dung dịch CHX 2% có hiệu quả tốt trong việc tiêu diệt các vi khuẩn *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, và *C. albicans*. Nghiên cứu của Kushwaha⁵ (2018) cho thấy AgNPs có hiệu quả kháng khuẩn *E. faecalis* cao hơn Laser diode 940 nm và khi Laser diode 940 nm kết hợp với AgNPs cho hiệu quả kháng khuẩn *E. faecalis* cao hơn khi chỉ sử dụng Laser diode đơn thuần.

V. KẾT LUẬN

Dung dịch nano bạc có kích thước 5 – 7 nm trong nghiên cứu này có nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu đối với vi khuẩn *E. faecalis* ở mật độ 10^8 CFU/ml là 62,5 ppm.

Hiệu quả kháng khuẩn *E. faecalis* nuôi cấy trong chân răng 21 ngày của dung dịch AgNPs 62,5 ppm tương đương nước muối sinh lý.

VI. LỜI CẢM ƠN

Xin gửi lời cảm ơn đến giám đốc và đội ngũ kỹ thuật viên tại Cty Nam Khoa Biotek đã hỗ trợ thực hiện đề tài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Zhang C, Du J, Peng Z.** Correlation between Enterococcus faecalis and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular Infection: A Systematic Review. *J Endod.* 2015; 41(8):1207-13. doi:10.1016/j.joen.2015.04.008
2. **Rôças IN, Siqueira JF, Jr., Santos KR.** Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004; 30(5):315-20. doi:10.1097/00004770-200405000-00004
3. **Sadek RW, Moussa SM, El Backly RM, Hammouda AF.** Evaluation of the Efficacy of Three Antimicrobial Agents Used for Regenerative Endodontics: An In Vitro Study. *Microbial drug resistance.* 2019;25(5):761-771. doi:10.1089/mdr.2018.0228
4. **Nayyar P, Sethi A, Thakur D, et al.** Antibacterial Effect of Silver Nanoparticle Gel as an Intracanal Medicament in Combination with Other Medicaments against Enterococcus faecalis: An In vitro Study. *Journal of pharmacy & bioallied sciences.* 2021;13 (Suppl 1):S408-s411. doi:10.4103/jpbs.JPBS_600_20
5. **Kushwaha V, Yadav RK, Tikku AP, et al.** Comparative evaluation of antibacterial effect of nanoparticles and lasers against Endodontic Microbiota: An in vitro study. *J Clin Exp Dent.* Dec 2018;10(12) :e1155-e1160. doi:10.4317/jced. 55076
6. **Krishnan R, Arumugam V, Vasaviah SK.** The MIC and MBC of Silver Nanoparticles against Enterococcus faecalis - A Facultative Anaerobe. *J Nanomed Nanotechnol.* 2015;6:1-4. doi:10.4172/2157-7439.1000285

7. **Ramkumar S, Natesan S, Gopal S, et al.** Green synthesized silver nanoparticles from *Garcinia imberti* bourn and their impact on root canal pathogens and HepG2 cell lines. *RSC Advances*. 2017;55:34548–34555. doi:10.1039/c6ra28328d
8. **Tang S, Zheng J.** Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. *Advanced healthcare materials*. 2018;7(13):e1701503. doi:10.1002/adhm.201701503
9. **Trần Quang Huy, Lê Thiên Kim, Phạm Văn Chung, và cộng sự.** Xác định định nồng độ ức chế tối thiểu của Nano Bạc đối với vi khuẩn gây bệnh bằng kỹ thuật vi phiên. *Tạp chí Y học dự phòng*. 2015;3(163):31-36. 20/04/2015. <http://www.tapchihocduphong.vn/tap-chi-y-hoc-du-phong/2015/03/xac-dinh-nong-do-uc-che-toi-thieu-cua-nano-bac-doi-voi-vi-khuan-gay-benh-bang-ky-o81E20222.html>
10. **Cui J, Sun Q, Duan M, Liu D, Fan W.** Establishment and characterization of silver-resistant *Enterococcus faecalis*. *Folia Microbiol (Praha)*. 2020; 65(4):721-733. doi:10.1007/s12223-020-00778-5

CÁC LOẠI DẠNG VÁCH NGĂN MŨI TRÊN CẮT LỚP VI TÍNH ĐA DÂY Ở BỆNH NHÂN VIÊM MŨI XOANG MẠN TÍNH

Lê Tuấn Linh^{1,2}, Mai Thê Cảnh¹, Nguyễn Thị Hương²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nhằm xác định tỷ lệ, phân bố tuổi và giới của các loại dị dạng vách ngăn trên cắt lớp vi tính đa dây (MSCT) ở các bệnh nhân (BN) viêm mũi xoang mãn tính. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu phân tích hồi cứu mô tả cắt ngang phân tích dị dạng vách ngăn mũi trên 200 BN được chụp MSCT xoang không tiêm thuốc cản quang tĩnh mạch tại Trung tâm Chẩn đoán hình ảnh và Can thiệp điện quang, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ tháng 09/2020 đến tháng 09/2022. Quy trình chụp MSCT từ xoang trán đến hết xoang bướm với các lớp mỏng 0.625mm, tái tạo theo mặt phẳng coronal vuông góc với khẩu cái cứng và axial song song với khẩu cái cứng. **Kết quả:** Nghiên cứu được thực hiện trên 200 BN có viêm mũi xoang mạn tính. Tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân là 47,8±14,4, dao động từ 8-77 tuổi với 103 BN (51,5%) nam và 97 BN (48,5%) nữ. Trong số 200 BN có 127 BN (63,5%) có dị dạng vách ngăn mũi với tỷ lệ dị dạng loại I là 28 BN (28,22%), loại hai II là 18 BN (18,14%), III là 20 BN (18,14%), IV là 2 (2,1%), V là 15 BN (15,12%), VI là 1 BN (1,1%), VII là 17 BN (17,13%), tỷ lệ mào vách ngăn là 24 BN (24,19%) và số BN có xoang hơi vách ngăn là 2 BN (2,2%). Độ tuổi trung bình của nhóm có và không có dị dạng vách ngăn mũi là 48,1±13,7 và 47,1±15,7, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Trong nhóm có dị dạng vách ngăn mũi, tỷ lệ nam và nữ lần lượt là 49,5% (51 BN) và 50,5% (52 BN), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. **Kết luận:** Dị dạng vách ngăn là một biến thể giải phẫu khá phổ biến ở các bệnh nhân viêm mũi xoang mạn tính. Không có sự khác biệt giữa tuổi và giới ở các bệnh nhân có hay không có dị dạng vách ngăn mũi có viêm mũi xoang

mạn tính. **Từ khóa:** dị dạng vách ngăn mũi. Chụp cắt lớp vi tính đa dây. Viêm xoang mạn tính.

SUMMARY

PREVALENCE OF SEPTAL DEFORMITIES ON MULTISLICE COMPUTED TOMOGRAPHY IN PATIENTS WITH CHRONIC RHINOSINUSITIS

Purpose: To determine the proportion, age and gender distribution of prevalence of septal degformities on Multislice Computed Tomography (MSCT) in patients with chronic rhinosinusitis. **Subjects and methods:** a retrospective study in 200 patients having chronic rhinosinusitis and undergoing sinus MSCT without intravenous contrast injection at Radiology Center-Hanoi Medical University Hospital from September 2020 to September 2022. MSCT scanning procedure from the frontal sinus to the end of the sphenoid sinus with 0.625mm thin layers, reconstructed in the coronal plane perpendicular to the hard palate and axial parallel to the hard palate. **Results:** The study included 200 patients with chronic rhinosinusitis. The average age of the patient group was 47.7±14.4, ranging from 8-77 years old with 103 patients (51,5%) male and 97 patients (48,5%) female. Among 200 patients, prevalence of septal degformities was present in 127 (63,5% with the rate of type I was 28 patients (28,22%), type II, III, IV, V, VI, VII was respectively 18 patients (18,14%), 20 patients (18,14%), 2 patients (2,1%), 15 patients (15,12%), 1 patients (1,1%), 17 patients (17,13%). The proportion of nasal septal were crests was 24 patients (24,19%) and the number of patients with nasal septal bullosa was 2 patients (2,2%). The average age of the groups with and without prevalence of septal degformities was 48.1±13.7 and 47.1±15.7, the difference was not statistically significant with $p > 0.05$. In the group with prevalence of septal degformities, the proportion of men and women were 49.5% (51 patients) and 50.5% (52 patients), respectively; the difference was not statistically significant with $p > 0.05$. **Conclusion:** prevalence of septal degformities were fairly common

¹Bệnh viện Đại Học Y Hà Nội

²Trường Đại Học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Lê Tuấn Linh

Email: linhdhyhn2017@gmail.com

Ngày nhận bài: 8.3.2024

Ngày phản biện khoa học: 16.4.2024

Ngày duyệt bài: 23.5.2024