

# Đánh giá khả năng diệt khuẩn *in vitro* của một số sản phẩm rửa tay khô

Nguyễn Thị Linh Giang<sup>1</sup>, Hà Vi<sup>1</sup>, Lê Văn Thanh<sup>2</sup>, Nguyễn Minh Hiền<sup>3</sup>, Lê Minh Trí<sup>3,4</sup>, Vũ Thanh Thảo<sup>4,\*</sup>



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

## TÓM TẮT

Hiện nay, hiệu quả kháng khuẩn của các sản phẩm rửa tay khô trong nước đang được đánh giá theo Quyết định 120/2000/QĐ-BYT. Tuy nhiên, khả năng diệt khuẩn được đánh giá với thời gian tiếp xúc là 10 phút, chưa phù hợp với các tiêu chuẩn quốc tế cũng như quá lâu so với thời gian rửa tay thực tế. Do đó, nghiên cứu này tiến hành khảo sát một số thông số nhằm đánh giá khả năng diệt khuẩn của nước rửa tay khô bao gồm: vi khuẩn thử nghiệm; đánh giá ảnh hưởng của mật độ vi khuẩn ban đầu và thời gian tiếp xúc giữa vi khuẩn và mẫu; đồng thời đánh giá, so sánh hiệu quả khử khuẩn của 10 loại sản phẩm rửa tay khô đang lưu hành trên thị trường. Các vi khuẩn để đánh giá khả năng diệt khuẩn được lựa chọn là *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 và *Serratia marcescens* ATCC 14756. Thử nghiệm khả năng diệt khuẩn *in vitro* được thực hiện với thời gian tiếp xúc của chất thử và vi khuẩn là 20 - 30 giây, mật độ vi khuẩn ban đầu khoảng  $10^8$  CFU/ml. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cho thấy 10 loại sản phẩm rửa tay khô đang lưu hành trên thị trường được đánh giá đều đạt hiệu quả diệt khuẩn, làm giảm số lượng vi khuẩn  $> 3 \log_{10}$  sau 30 giây tiếp xúc. Như vậy, nghiên cứu đã giúp cải thiện cũng như đề xuất quy trình đánh giá phù hợp các sản phẩm nước rửa tay khô hiện hành theo quyết định Quyết định 120/2000/QĐ-BYT.

**Từ khoá:** *in vitro*, hiệu quả khử khuẩn, nước rửa tay khô, phương pháp time-kill

<sup>1</sup>Trung tâm KH CN Dược Sài Gòn, Đại Học Y Dược TP. HCM, Việt Nam

<sup>2</sup>Khoa Xét Nghiệm, Bệnh viện Chợ Rẫy, Việt Nam

<sup>3</sup>Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>4</sup>Khoa Dược, Đại học Y Dược TP HCM, Việt Nam

## Liên hệ

**Vũ Thanh Thảo**, Khoa Dược, Đại học Y Dược TP HCM, Việt Nam

Email: vuthanhthao@ump.edu.vn

## Lịch sử

- Ngày nhận: 22-06-2022
- Ngày chấp nhận: 04-01-2023
- Ngày đăng: 31-01-2023

## DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjet.v5i4.1023>



## Bản quyền

© ĐHQG TP.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



## ĐẶT VẤN ĐỀ

Rửa tay là một trong những cách đơn giản nhưng hiệu quả để ngăn ngừa vi sinh vật lây lan do đó làm giảm tỷ lệ mắc các bệnh nhiễm trùng<sup>1</sup>. Theo Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa dịch bệnh Hoa Kỳ (CDC), việc rửa tay thường xuyên giúp giảm 23–40% số người mắc bệnh tiêu chảy<sup>2–4</sup>; giảm 58% bệnh tiêu chảy ở những người có hệ miễn dịch yếu<sup>5</sup>; giảm 16–21% các bệnh về đường hô hấp như cảm lạnh trong dân số nói chung<sup>3,6</sup>; giảm 29–57% tỷ lệ trẻ em phải nghỉ học do các bệnh về đường tiêu hóa<sup>7</sup>. Trong đại dịch COVID-19, việc giữ cho tay sạch khuẩn là điều đặc biệt quan trọng để giúp ngăn ngừa virus lây lan.

Theo hướng dẫn của CDC, rửa tay đúng cách là rửa tay với xà phòng, theo qui trình rửa tay 5 bước, mỗi thao tác lặp lại ít nhất 5 lần, rửa tay ít nhất trong 20–30 giây. Trong trường hợp không có sẵn xà phòng và nước, có thể sử dụng dung dịch sát khuẩn nhanh có chứa ít nhất 60% cồn<sup>8</sup>. Hiện nay có nhiều sản phẩm sát khuẩn tay không dùng nước là các sản phẩm rửa tay khô, đựng trong chai nhỏ tiện lợi cho người sử dụng mang theo và sử dụng khi không có nước sạch và xà phòng.

Ở nước ta, các sản phẩm rửa tay khô được quản lý theo nghị định số 91/2016/NĐ-CP ngày 01/07/2016

của Chính phủ về quản lý hóa chất, chế phẩm diệt côn trùng, diệt khuẩn dùng trong lĩnh vực gia dụng và y tế<sup>9</sup> và Thông tư 09/2018/TT-BYT “Ban hành danh mục hóa chất, chế phẩm diệt côn trùng, diệt khuẩn dùng trong gia dụng và y tế thuộc lĩnh vực quản lý nhà nước của Bộ Y tế được xác định mã số hàng hóa theo danh mục hàng hóa xuất khẩu, nhập khẩu Việt Nam” với mã số hàng hóa 3808.94.90: Chế phẩm diệt khuẩn tay không dùng nước dùng trong gia dụng (Chế phẩm để diệt khuẩn tay dùng trong gia dụng, không bao gồm xà phòng có tác dụng chính là tẩy rửa và chứa thêm chất diệt khuẩn). Về qui trình thử nghiệm, ngày 24/01/2000, Bộ Y tế ban hành quyết định 120/2000/QĐ-BYT - Ban hành qui trình khảo nghiệm hóa chất, chế phẩm diệt côn trùng, diệt khuẩn dùng trong lĩnh vực gia dụng và y tế, trong đó qui định thời gian tiếp xúc của chất thử đối với yêu cầu sát khuẩn là sau 10 phút, 20 phút, đối với yêu cầu vô khuẩn là sau 10 giờ, 18 giờ, tuy nhiên khoảng thời gian này là không phù hợp với thực tế khi sử dụng nước rửa tay trong một qui trình rửa tay vệ sinh thông thường hay rửa tay phẫu thuật. Dự thảo “Thông tư - Ban hành hướng dẫn 14 qui trình khảo nghiệm hóa chất, chế phẩm diệt côn trùng, diệt khuẩn dùng trong lĩnh vực gia dụng và y tế”, lần 2 năm 2018 của Bộ Y tế hiện vẫn chưa có hiệu lực, tuy nhiên trong Phụ lục 10 của

**Trích dẫn bài báo này:** Giang N T L, Vi H, Thanh L V, Hiền N M, Trí L M, Thảo V T. **Đánh giá khả năng diệt khuẩn *in vitro* của một số sản phẩm rửa tay khô.** *Sci. Tech. Dev. J. - Eng. Tech.*; 5(4):1695-1702.

Dự thảo này cũng hướng dẫn “Qui trình khảo nghiệm hóa chất, chế phẩm rửa tay sát khuẩn”, khảo nghiệm được thực hiện với mật độ vi khuẩn ban đầu là  $1,5-5,0 \times 10^8$  CFU/ml và thời gian tiếp xúc của vi khuẩn với chất thử từ 1–5 phút. Trong khi theo hướng dẫn của Hiệp hội Thí nghiệm và Vật liệu Hoa Kỳ (ASTM), mật độ vi khuẩn ban đầu có thể sử dụng trong thử nghiệm đánh giá khả năng tác động kháng khuẩn là  $10^6$  CFU/ml; ngoài ra theo hướng dẫn của WHO, thời gian rửa tay theo khuyến cáo là 20–30 giây cho các sản phẩm rửa tay không sử dụng nước. Do đó nghiên cứu này thực hiện nhằm khảo sát của mật độ vi khuẩn ban đầu là  $10^6$  CFU/ml và  $10^8$  CFU/ml và thời gian tiếp xúc của vi khuẩn thử nghiệm với mẫu thử: 20–120 giây, trên danh sách các chủng vi khuẩn được lựa chọn phù hợp với các hướng dẫn thử nghiệm của quốc tế, từ đó giúp cải thiện qui trình đánh giá các sản phẩm nước rửa thay khô hiện hành theo quyết định 120/2000/QĐ-BYT.

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Lựa chọn vi sinh vật cho thử nghiệm khả năng diệt khuẩn

Danh sách chủng vi khuẩn để đánh giá khả năng diệt khuẩn của sản phẩm rửa tay được xây dựng trên cơ sở tham khảo các nghiên cứu liên quan; các hướng dẫn thực hành vệ sinh tay của CDC, WHO; và các nghiên cứu về vi sinh vật cư trú trên tay. Nguồn tài liệu tham khảo được thu nhận từ cơ sở dữ liệu PubMed và Google Scholar với các từ khóa “antimicrobial activity”, “hand washing”, “hand sanitizer” trong khoảng thời gian từ 2010 đến 2020. Tiêu chí thu nhận tài liệu tham khảo là các khảo sát, nghiên cứu, không có giới hạn về kích thước mẫu. Mọi bản tóm tắt hội nghị, báo cáo trường hợp đều bị loại bỏ.

### Thử nghiệm khả năng diệt khuẩn *in vitro* theo phương pháp time-kill

Qui trình thử nghiệm *in vitro* khả năng diệt khuẩn của sản phẩm rửa tay theo phương pháp time-kill được xây dựng dựa theo hướng dẫn của CLSI M26-A - Phương pháp xác định hoạt tính diệt khuẩn của các tác nhân kháng khuẩn<sup>10</sup> và ASTM 2315-16 - Hướng dẫn tiêu chuẩn để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn sử dụng qui trình time-kill<sup>11</sup>. Đây là phương pháp định lượng được thiết kế để đánh giá những thay đổi về số lượng vi sinh vật của các chất kháng khuẩn dạng dung dịch. Phương pháp này có thể được tiến hành với thời gian tiếp xúc từ 10 giây đến 24 giờ. Phương pháp trung hòa chất ức chế có trong mẫu thử được thực hiện theo hướng dẫn của ASTM 1054-08

- Các thực hành tiêu chuẩn để đánh giá chất làm bất hoạt các chất kháng khuẩn<sup>12</sup>.

### Chuẩn bị vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn cần khảo sát được cấy lên môi trường thạch Mueller Hinton và ủ  $37^\circ\text{C}$  qua đêm. Lấy khuẩn lạc riêng rẽ tăng sinh trong môi trường lỏng Mueller Hinton ở  $37^\circ\text{C}$  trong 18-24 giờ. Ly tâm thu vi khuẩn và rửa 2 lần với NaCl 0,9% và huyền phù lại trong NaCl 0,9%. Vi khuẩn chuẩn bị cần được sử dụng trong vòng 15 phút.

### Chuẩn bị mẫu nước rửa tay theo công thức đề nghị của WHO

Mẫu nước rửa tay thử nghiệm được chuẩn bị theo công thức nước rửa tay được đề nghị bởi WHO với thành phần như sau: ethanol 80% tt/tt, glycerol 1,45% tt/tt, hydrogen peroxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 0,125% tt/tt. Mẫu thử được cho vào các ống với lượng 10 ml và được ủ ở nhiệt độ thử nghiệm  $25^\circ\text{C}$ <sup>13</sup>.

### Đánh giá ảnh hưởng của mật độ vi khuẩn ban đầu và thời gian tiếp xúc của vi khuẩn thử nghiệm với mẫu thử

Vi khuẩn được huyền phù trong NaCl 0,9%, điều chỉnh OD<sub>600</sub> của dịch vi khuẩn là 0,1 và 10; bổ sung 100  $\mu\text{l}$  vi khuẩn vào các ống chứa 10 ml mẫu sao cho đạt mật độ  $10^6$  (bổ sung dịch vi khuẩn OD<sub>600</sub> là 0,1) hoặc  $10^8$  CFU/ml (bổ sung dịch vi khuẩn OD<sub>600</sub> là 10). Ủ các ống mẫu thử chứa vi khuẩn ở nhiệt độ khoảng  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  trong các khoảng thời gian: 20 giây, 30 giây, 60 giây, 120 giây. Xác định lượng vi khuẩn còn lại trong mẫu thử bằng phương pháp đếm sống trên thạch MHA: pha loãng ống thử nghiệm chứa vi khuẩn cấp số 10 bằng NaCl 0,9% từ  $10^{-1}$ - $10^{-6}$ . Hút 100  $\mu\text{l}$  dịch ở mỗi cấp pha loãng và trải lên môi trường MHA. Dùng que gạt trải đều vi khuẩn trên mặt thạch. Ủ ở  $37^\circ\text{C}$  qua đêm và đếm số lượng khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch. Lập lại ba lần đối với mỗi chủng vi khuẩn thử nghiệm. Thực hiện tương tự với mẫu đối chứng sử dụng NaCl 0,9% thay cho mẫu thử. Hiệu lực giảm vi sinh vật (giảm log10) của mẫu thử được tính toán theo công thức sau:<sup>14</sup>

$$\text{Hiệu lực giảm vi sinh vật} = \log N_o - \log N_a$$

Trong đó:

$N_o$ : nồng độ vi khuẩn thử nghiệm.

$N_a$ : nồng độ vi khuẩn còn sống trong mẫu thử (CFU/ml).

### Đánh giá khả năng diệt khuẩn của một số sản phẩm rửa tay khô

Mười mẫu sản phẩm rửa tay khô được đánh giá khả năng diệt khuẩn đối với các vi khuẩn, thời gian tiếp

**Bảng 1: Các sản phẩm rửa tay khô sử dụng trong nghiên cứu**

Ký hiệu	Thành phần trên nhãn sản phẩm	Thời gian còn hạn sử dụng
M1	Bioethanol, Tea tree essential oil, Cajeputi essential Institute oil, Sacha inchi oil, Glycerine	23 tháng
M2	Bioethanol, Tea tree essential oil, Cajeputi essential oil, Sacha inchi oil, Carbomer, PEG 40 Hydrogenated Castor Oil	23 tháng
M3	Ethanol, eucalyptol, Melaleuca alternifolia oil, Lavender oil, Rosmarinus officinalis oil, Aqua, Mentha piperita oil, Glycerine, Carbomer	23 tháng
M4	Ethanol, Aqua, Sodium lactate, Glycerine, Tocophenol, Acid citric, Cymbopogon citratus leaf oil	35 tháng
M5	Ethanol, Aqua, Glycerine, Hydrogen Peroxide, Melaleuca cajuputi oil, Lavender oil	23 tháng
M6	Hỗn hợp tinh dầu tự nhiên bạch đàn hương, tinh dầu xả Java, tinh dầu trà, cồn 90%	23 tháng
M7	Lô hội, Tinh dầu Trà, Tinh dầu Sả Chanh, Tinh dầu Sả Java, Ethanol, Chất béo thực vật, Tinh dầu Cam	23 tháng
M8	Lô hội, Tinh dầu Trà, Tinh dầu Sả Chanh, Tinh dầu Sả Java, Ethanol, Chất béo thực vật	23 tháng
M9	Ethanol, Aqua, Glycerin, Hydrogen Peroxide, Melaleuca Cajuputi Oil, Lavender Oil	23 tháng
M10	Tinh dầu Sả Chanh, Tinh dầu Sả Java, Hydrosol, Ethanol	23 tháng

xúc và mật độ vi khuẩn ban đầu đã được lựa chọn. Thông tin của các sản phẩm được trình bày trong Bảng 1.

## KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### Lựa chọn vi sinh vật cho thử nghiệm khả năng diệt khuẩn

Kết quả tìm kiếm các nghiên cứu liên quan tới đánh giá khả năng diệt khuẩn của nước rửa tay từ cơ sở dữ liệu Google Scholar và Pubmed trong khoảng thời gian 2010 - 2020 được trình bày trong Bảng 2.

*Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli* được sử dụng trong hầu hết các nghiên cứu về sản phẩm nước rửa tay<sup>15-17</sup>. Bên cạnh *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli*, các chủng vi khuẩn thường sử dụng trong nghiên cứu khả năng diệt khuẩn của nước rửa tay như *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*<sup>18,19</sup>.

Theo hướng dẫn vệ sinh tay trong chăm sóc sức khỏe của WHO (2009)<sup>13</sup>, thử nghiệm *in vivo* cơ bản của phương pháp kiểm tra tính hiệu quả của các công thức vệ sinh tay được thực hiện trên chủng vi khuẩn *Escherichia coli* (theo EN 1499, EN 1500), *Escherichia coli* và *Serratia marcescens* (theo ASTM 1174), *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* và *Staphylococcus aureus* (theo ASTM E-2276). Ngoài ra, theo EN

13727:2012, các chủng vi khuẩn được sử dụng để đánh giá hiệu quả của nước rửa tay trong thử nghiệm *in vitro* bao gồm *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli* K12.

Các nghiên cứu đã chứng minh các chủng vi khuẩn cư trú trên da là mầm bệnh gây bệnh cơ hội ở người. *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* là loài được tìm thấy nhiều nhất trên các lớp bề mặt của da<sup>20,21</sup>. Nhiều nghiên cứu ngoài nước đều đi đến thống nhất trực khuẩn Gram âm là căn nguyên hàng đầu gây nhiễm trùng cơ hội, thường gặp là *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*<sup>22-24</sup>. Bên cạnh đó *Serratia marcescens* là vi khuẩn có màu hồng ở nhiệt độ 30 °C nên thường được sử dụng làm chủng chỉ thị trong các thử nghiệm đánh giá hiệu quả diệt khuẩn.

Từ các sơ sở trên, các chủng vi khuẩn được lựa chọn sử dụng trong thử nghiệm *in vitro* trong nghiên cứu này bao gồm: vi khuẩn gram dương *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, vi khuẩn gram âm *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 và *Serratia marcescens* ATCC 14756.

**Bảng 2: Kết quả tìm kiếm tài liệu tham khảo cho lựa chọn vi sinh vật thử nghiệm**

Từ khóa tìm kiếm	Google Scholar	Pubmed
“antimicrobial activity”+“hand washing”+“hand sanitizer”	242	48
+“ <i>Staphylococcus aureus</i> ” *	159	23
+“ <i>Escherichia coli</i> ” *	140	19
+“ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ” *	79	14
+“ <i>Staphylococcus epidermidis</i> ” *	45	8
+“ <i>Serratia marcescens</i> ” *	32	4
+“ <i>Klebsiella pneumoniae</i> ” *	32	5
+“ <i>Enterococcus faecalis</i> ” *	29	7

\*: “antimicrobial activity”+“hand washing”+“hand sanitizer” + “tên vi khuẩn tương ứng”

## THỬ NGHIỆM KHẢ NĂNG DIỆT KHUẨN *IN VITRO* THEO PHƯƠNG PHÁP TIME-KILL

### Đánh giá ảnh hưởng của mật độ vi khuẩn ban đầu và thời gian tiếp xúc của vi khuẩn thử nghiệm với mẫu thử

Kết quả thử nghiệm khả năng diệt khuẩn *in vitro* theo phương pháp time-kill của mẫu thử nước rửa tay theo công thức của WHO với các chủng vi khuẩn được chọn ở các thời gian tiếp xúc khác nhau được trình bày trong Bảng 3.

Mẫu thử có khả năng diệt khuẩn trên cả bốn chủng vi khuẩn thử nghiệm. Hiệu lực giảm vi sinh vật ở mật độ vi khuẩn thử nghiệm khoảng  $10^8$  CFU/ml thấp hơn so với mật độ vi khuẩn thử nghiệm khoảng  $10^6$  CFU/ml, tuy vậy lượng vi khuẩn vẫn giảm 3 - 4 log<sub>10</sub> khi thời gian tiếp xúc giữa vi khuẩn và mẫu thử là 20 - 30 giây ở cả hai mật độ vi khuẩn thử nghiệm, đây cũng là thời gian phù hợp cho một quy trình rửa tay sát khuẩn nhanh thường qui theo hướng dẫn của WHO (2009) cho các sản phẩm rửa tay có chứa cồn<sup>13</sup>. Khi tăng thời gian tiếp xúc lên 60 - 120 giây thì lượng vi khuẩn giảm 4 - 5 log<sub>10</sub> ở cả hai mật độ vi khuẩn thử nghiệm. Tuy nhiên ở mật độ vi khuẩn  $10^6$  CFU/ml, khi tiến hành trải đếm, vi khuẩn chỉ mọc ở cấp pha loãng  $10^{-1}$ , ở cấp pha loãng này không đảm bảo việc trung hòa mẫu thử, do đó số liệu thu được không phản ánh chính xác được lượng vi khuẩn còn lại sau khi tiếp xúc với mẫu thử. Như vậy để đánh giá tỷ lệ diệt khuẩn *in vitro* của sản phẩm rửa tay khô, mật độ vi khuẩn thử nghiệm ban đầu khoảng  $10^8$  CFU/ml trong thời gian tiếp xúc 20-30 giây, đối với cả bốn chủng vi khuẩn.

### Đánh giá khả năng diệt khuẩn của một số sản phẩm rửa tay khô

Kết quả đánh giá tỷ lệ diệt khuẩn của 10 sản phẩm rửa tay khô trên thị trường được đánh giá với thời gian tiếp xúc của mẫu nước rửa tay khô và vi khuẩn là 30 giây, kết quả được trình bày trong Bảng 4.

Kết quả đánh giá cho thấy 10 sản phẩm rửa tay khô sau 30 giây tiếp xúc với vi khuẩn có khả năng làm giảm lượng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens* ATCC 14756 và *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 trong khoảng 3 - 4 log<sub>10</sub>.

Theo FDA, các thử nghiệm *in vitro* để xác định hiệu quả đối với thuốc sát trùng chăm sóc sức khỏe và tiêu dùng bao gồm hai thử nghiệm: nồng độ ức chế tối thiểu hoặc nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MIC/ MBC) và time-kill<sup>15</sup>. Thử nghiệm time-kill sử dụng trong nghiên cứu này phù hợp với các thử nghiệm *in vitro* cơ bản của phương pháp kiểm tra tính hiệu quả của các công thức vệ sinh tay của Hiệp hội vật liệu và thử nghiệm Hoa Kỳ - ASTM và tiêu chuẩn Châu Âu - EN. Đây là phương pháp thử nghiệm *in vitro* phù hợp cho các nhà phát triển sản phẩm sát trùng tại chỗ vì thực hiện nhanh chóng và có thể lặp lại nhiều lần để đo lường khả năng diệt khuẩn của một công thức kháng khuẩn dạng lỏng. Quy trình khảo nghiệm khả năng diệt khuẩn trong Quyết định 120/2000/QĐ-BYT vẫn còn hiệu lực tuy nhiên danh sách chủng vi sinh vật thử nghiệm, thời gian tiếp xúc giữa vi khuẩn và chất thử cần được cập nhật cho phù hợp với các quy trình khảo nghiệm hiện hành theo tiêu chuẩn quốc tế, cũng như hướng dẫn của WHO, CDC. Kết quả của nghiên cứu sẽ mang lại thông tin khoa học giúp cơ quan chức năng tham khảo để xây dựng những qui định mới, có thể kiểm soát tốt hơn chất lượng của nhóm sản phẩm nước rửa tay, nước rửa tay khô. Dự thảo “Thông tư - Ban hành hướng dẫn 14 qui trình khảo nghiệm hóa

**Bảng 3: Kết quả khảo sát thời gian tiếp xúc của mẫu thử với các vi khuẩn thử nghiệm và mật độ vi khuẩn ban đầu**

Vi sinh vật thử nghiệm	Thời gian tiếp xúc (giây)	Mật độ vi khuẩn ban đầu	
		10 <sup>6</sup> CFU/ml	10 <sup>8</sup> CFU/ml
Giảm Log10			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	20	3,64 ± 0,02	3,54 ± 0,02
	30	4,39 ± 0,02	4,31 ± 0,02
	60	4,69 ± 0,03	4,56 ± 0,03
	120	5,29 ± 0,14	5,06 ± 0,05
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20	3,72 ± 0,02	3,64 ± 0,01
	30	4,48 ± 0,02	4,18 ± 0,06
	60	4,88 ± 0,05	4,79 ± 0,03
	120	5,18 ± 0,08	5,10 ± 0,02
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 14756	20	3,59 ± 0,01	3,52 ± 0,02
	30	4,36 ± 0,03	4,22 ± 0,07
	60	4,96 ± 0,08	4,71 ± 0,04
	120	5,28 ± 0,14	5,05 ± 0,03
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20	3,76 ± 0,01	3,69 ± 0,01
	30	4,39 ± 0,06	4,14 ± 0,03
	60	4,93 ± 0,06	4,79 ± 0,03
	120	5,39 ± 0,14	5,08 ± 0,04

chất, chế phẩm diệt côn trùng, diệt khuẩn dung trong lĩnh vực gia dụng và y tế, lần 2 năm 2018 của Bộ Y tế, thời gian tiếp xúc của vi khuẩn và chất thử từ 1-5 phút, khoảng thời gian này dài hơn so với thời gian rửa tay thông thường theo khuyến cáo của CDC và Bộ Y tế, điều này có thể dẫn đến việc đánh giá khả năng diệt khuẩn chưa chính xác.

Trong nghiên cứu này, thời gian tiếp xúc của vi khuẩn và chất thử trong thử nghiệm khả năng diệt khuẩn của nước rửa tay khô là 20 - 30 giây sẽ giúp đánh giá khả năng diệt khuẩn dựa trên thời gian sử dụng sản phẩm thực tế. Trong văn bản tóm tắt của FDA về Hội nghị Ủy ban Tư vấn Thuốc Không kê đơn vào ngày 11/03/2020, yêu cầu về dữ liệu hiệu quả đối với chất sát trùng không kê đơn dành cho người tiêu dùng và chăm sóc sức khỏe cho các sản phẩm thuộc nhóm chất sát trùng tiêu dùng được thực hiện thử nghiệm *in vitro* bằng phương pháp time-kill là giảm > 3 log10 trong vòng 30 giây<sup>25</sup>. Như vậy các sản phẩm rửa tay khô trong nghiên cứu này đạt yêu cầu của FDA về khả năng diệt khuẩn trên các chủng vi khuẩn thử nghiệm. Các sản phẩm rửa tay khô thương mại được đánh giá trong nghiên cứu ngoài các thành phần cơ bản theo

công thức nước rửa tay diệt khuẩn do WHO khuyến nghị như cồn sinh học và glycerin còn chứa các loại tinh dầu thực vật như Tràm trà, Tràm gió, Sả chanh, Sả Java, Eucalyptol, Hương thảo, Lavender,... Các tinh dầu này ngoài tác dụng tạo hương thơm cho sản phẩm thì khả năng ức chế sự phát triển của các vi sinh vật gây bệnh như *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028, *K. pneumoniae* ATCC 700603 và *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) cũng đã được chứng minh trong nghiên cứu của Katarzyna và cộng sự (2019)<sup>26</sup>. Kết quả khảo sát khả năng diệt khuẩn của các sản phẩm nước rửa tay khô có bổ sung thêm tinh dầu cho thấy một số sản phẩm có bổ sung tinh dầu với hàm lượng cao như mẫu 3, bổ sung thêm tinh dầu nồng độ 5% (tt/tt) giúp làm tăng khả năng diệt khuẩn với  $\frac{3}{4}$  vi khuẩn thử nghiệm có độ giảm log10 > 4.

## KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đánh giá khả năng diệt khuẩn *in vitro* của nước rửa tay khô bằng phương pháp time-kill trên vi khuẩn *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 và *Serratia marcescens* ATCC 14756,

**Bảng 4: Kết quả đánh giá khả năng diệt khuẩn của một số sản phẩm rửa tay khô**

Vi sinh vật thử nghiệm	Mẫu thử	Giảm log10	Mẫu thử	Giảm log10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	M1	3,53 ± 0,04	M6	3,26 ± 0,02
	M2	3,58 ± 0,07	M7	3,65 ± 0,03
	M3	4,31 ± 0,06	M8	3,81 ± 0,03
	M4	3,32 ± 0,10	M9	3,47 ± 0,09
	M5	3,40 ± 0,12	M10	3,48 ± 0,06
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	M1	3,60 ± 0,10	M6	3,14 ± 0,01
	M2	3,50 ± 0,12	M7	3,61 ± 0,03
	M3	4,57 ± 0,12	M8	3,84 ± 0,02
	M4	3,30 ± 0,06	M9	3,34 ± 0,04
	M5	3,29 ± 0,06	M10	3,32 ± 0,05
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 14756	M1	4,62 ± 0,12	M6	3,25 ± 0,01
	M2	4,28 ± 0,04	M7	4,43 ± 0,02
	M3	3,76 ± 0,09	M8	4,34 ± 0,11
	M4	3,21 ± 0,06	M9	3,25 ± 0,02
	M5	3,26 ± 0,08	M10	3,16 ± 0,01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	M1	3,63 ± 0,10	M6	3,28 ± 0,05
	M2	3,60 ± 0,11	M7	3,27 ± 0,07
	M3	4,22 ± 0,07	M8	3,40 ± 0,04
	M4	3,18 ± 0,03	M9	3,14 ± 0,03
	M5	3,27 ± 0,06	M10	3,29 ± 0,02

với các thông số được hiệu chỉnh so với quyết định 120/2000/QĐ-BYT như sau: mật độ vi khuẩn ban đầu  $10^8$  CFU/ml, thời gian tiếp xúc giữa vi khuẩn và chất thử 20 - 30 giây. 10 sản phẩm rửa tay khô thương mại trong nghiên cứu có khả năng diệt khuẩn trên cả 4 chủng vi khuẩn thử nghiệm với khả năng diệt khuẩn của các sản phẩm cho kết quả giảm  $>3$  log<sub>10</sub> lượng vi khuẩn so với ban đầu sau thời gian tiếp xúc 30 giây.

### XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Nhóm tác giả cam kết rằng không có xung đột lợi ích khi thực hiện nghiên cứu này.

### ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Vũ Thanh Thảo đưa ra ý tưởng, hình thành và thiết kế tất cả các thí nghiệm. Các tác giả Nguyễn Thị Linh Giang, Hà Vi, Lê Văn Thanh, Vũ Thanh Thảo tiến hành các thí nghiệm, chịu trách nhiệm thu thập, phân tích và xử lý số liệu. Nguyễn Thị Linh Giang, Hà Vi, Lê Văn Thanh, Vũ Thanh Thảo, Lê Minh Trí, Nguyễn Minh Hiển tham gia viết bản thảo và chỉnh sửa nội dung

bản thảo. Tất cả các tác giả đã đọc và duyệt bản thảo cuối cùng.

### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này sử dụng kinh phí đề tài mã số 208/2020 của Đại học Y Dược Hồ Chí Minh cấp cho Vũ Thanh Thảo.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Morbidity and Mortality Weekly Report. 2002;23(16):1-45;PMID: 12515399. Available from: <https://doi.org/10.1086/503164>.
- Ejemot-Nwadiaro RI, Ehiri JE, Meremikwu MM, Critchley JA. Hand washing for preventing diarrhoea. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2008(1);PMID: 18254044. Available from: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004265.pub2>.
- Aiello AE, Coulborn RM, Perez V, Larson EL. Effect of hand hygiene on infectious disease risk in the community setting: a meta-analysis. American Journal of Public Health. 2008;98(8):1372-1381;PMID: 18556606. Available from: <https://doi.org/10.2105/AJPH.2007.124610>.

4. Freeman MC, Stocks ME, Cumming O, Jeandron A, Higgins JP, Wolf J, et al. Systematic review: hygiene and health: systematic review of handwashing practices worldwide and update of health effects. *Tropical Medicine and International Health*. 2014;19(8):906-916;PMID: 24889816. Available from: <https://doi.org/10.1111/tmi.12339>.
5. Huang DB, Zhou J. Effect of intensive handwashing in the prevention of diarrhoeal illness among patients with AIDS: a randomized controlled study. *Journal of medical microbiology*. 2007;56(5):659-663;PMID: 17446290. Available from: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46867-0>.
6. Rabie T, Curtis V. Handwashing and risk of respiratory infections: a quantitative systematic review. *Tropical Medicine and International Health*. 2006;11(3):258-267;PMID: 16553905. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2006.01568.x>.
7. Wang Z, Lapinski M, Quilliam E, Jaykus L-A, Fraser A. The effect of hand-hygiene interventions on infectious disease-associated absenteeism in elementary schools: A systematic literature review. *American Journal of Infection Control*. 2017;45(6):682-689;PMID: 28242074. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2017.01.018>.
8. Centers for Disease Control and Prevention. When and How to Wash Your Hands USA: Centers for Disease Control and Prevention; 2022 [cited 2022 June 20]; Available from: <https://www.cdc.gov/handwashing/when-how-handwashing.html>.
9. Chính phủ. Nghị định số 91/2016/NĐ-CP về Quản lý hóa chất, quản lý hóa chất, chế phẩm diệt côn trùng, diệt khuẩn dùng trong lĩnh vực gia dụng và y tế. Hà Nội. 2016; Available from: <https://vbpl.vn/TW/Pages/vbpc-toanvan.aspx?ItemID=112021>.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved Guideline, M26-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 1999;.
11. ASTM International. Standard Guide for Assessment of Antimicrobial Activity Using a Time-Kill Procedure. ASTM E2315-16. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2016;.
12. ASTM International. Standard Test Methods for Evaluation of Inactivators of Antimicrobial Agents. ASTM E1054-08. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2013;.
13. World Health Organization. Guide to hygiene and sanitation in aviation: World Health Organization; 2009;.
14. U.S. Food and Drug Administration. FDA Briefing Document. Nonprescription Drugs Advisory Committee Meeting; 2020;.
15. Bondurant SW, Duley CM, Harbell JW. Demonstrating the persistent antibacterial efficacy of a hand sanitizer containing benzalkonium chloride on human skin at 1, 2, and 4 hours after application. *American Journal of Infection Control*. 2019;47(8):928-932;PMID: 30777389. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2019.01.004>.
16. Eggers M, Koburger-Janssen T, Ward LS, Newby C, Müller S. Bactericidal and virucidal activity of povidone-iodine and chlorhexidine gluconate cleansers in an in vivo hand hygiene clinical simulation study. *Infectious Diseases and Therapy*. 2018;7(2):235-247;PMID: 29761329. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40121-018-0202-5>.
17. Hagir D, Otari K, Surushe P. Optimization and Characterization of Herbal Hand Sanitizer by Using Drug Parsley. *American Journal Of Pharmacy And Health Research*. 2020;8(1); Available from: <https://doi.org/10.46624/ajphr.2020.v8.i1.002>.
18. Jain VM, Karibasappa GN, Dodamani AS, Prashanth VK, Mali GV. Comparative assessment of antimicrobial efficacy of different hand sanitizers: An in vitro study. *Dental research journal*. 2016;13(5):424-431;PMID: 27857768. Available from: <https://doi.org/10.4103/1735-3327.192283>.
19. López-Gigosos R, Mariscal-López E, Gutierrez-Bedmar M, García-Rodríguez A, Mariscal A. Evaluation of antimicrobial persistent activity of alcohol-based hand antiseptics against bacterial contamination. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2017;36(7):1197-1203; Available from: <https://doi.org/10.1007/s10096-017-2908-9>.
20. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*. 2018;16(3):143-155; Available from: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.157>.
21. Kapil R, Bhavsar HK, Madan M. Hand hygiene in reducing transient flora on the hands of healthcare workers: an educational intervention. *Indian journal of medical microbiology*. 2015;33(1):125-128; Available from: <https://doi.org/10.4103/0255-0857.148409>.
22. Khanna A, Khanna M, Aggarwal A. *Serratia marcescens*-a rare opportunistic nosocomial pathogen and measures to limit its spread in hospitalized patients. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*. 2013;7(2):243; Available from: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5010.2737>.
23. Kim SB, Jeon YD, Kim JH, Kim JK, Ann HW, Choi H, et al. Risk factors for mortality in patients with *Serratia marcescens* bacteremia. *Yonsei Medical Journal*. 2015;56(2):348-354; Available from: <https://doi.org/10.3349/ymj.2015.56.2.348>.
24. MacKinnon MC, McEwen SA, Pearl DL, Lyytikäinen O, Jacobsson G, Collignon P, et al. Mortality in *Escherichia coli* bloodstream infections: a multinational population-based cohort study. *BMC Infectious Diseases*. 2021;21(1):1-10; Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06326-x>.
25. Food and Drug Administration, editor FDA Briefing Document. Nonprescription Drugs Advisory Committee Meeting; 2020;.
26. Wińska K, Mączka W, Łyczko J, Grabarczyk M, Czubaszek A, Szumny A. Essential oils as antimicrobial agents-myth or real alternative? *Molecules*. 2019;24(11):2130;PMID: 31195752. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules24112130>.

# Evaluating *in vitro* antimicrobial activity of hand sanitizers

Nguyen Thi Linh Giang<sup>1</sup>, Ha Vi<sup>1</sup>, Le Van Thanh<sup>2</sup>, Le Minh Tri<sup>3,4</sup>, Nguyen Minh Hien<sup>4</sup>, Vu Thanh Thao<sup>3,\*</sup>



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

## ABSTRACT

Domestic hand sanitizers have been evaluated for their antibacterial activity according to Decision 120/2000/QĐ-BYT. However, the antibacterial ability was assessed with 10 minutes of the contact time, inconsistent with international standards and much longer than the actual hand washing time. Therefore, this study aims to test the antibacterial ability of dry hand sanitizer with some parameters, such as a list of tested bacteria, and at the same time, evaluate the antibacterial activity of some products being commercially available on the market. The results showed that the bacteria to evaluate the antibacterial activity selected were *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, and *Serratia marcescens* ATCC 14756. The exposure time between the reagent and bacteria was 20 - 30 seconds, and the initial bacterial density was approximately  $10^8$  CFU/ml. Ten hand sanitizers can reduce the number of bacteria by more than 3 log<sub>10</sub>. In conclusion, the study has helped improve the current evaluation process of hand sanitizer products according to Decision 120/2000/QĐ-BYT.

**Key words:** in vitro, antibacterial activity, hand sanitizer, time-kill method

<sup>1</sup>Saigon Pharmaceutical Science and Technology Center, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Laboratory Department, Cho Ray Hospital, Vietnam

<sup>3</sup>Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>4</sup>School of Medicine, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

## Correspondence

**Vu Thanh Thao**, Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: vuthanhthao@ump.edu.vn

## History

- Received: 22-06-2022
- Accepted: 04-01-2023
- Published: 31-1-2023

DOI : <https://doi.org/10.32508/stdjet.v5i4.1023>



## Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



**Cite this article :** Giang NTL, Vi H, Thanh LV, Tri LM, Hien NM, Thao VT. **Evaluating *in vitro* antimicrobial activity of hand sanitizers** . *Sci. Tech. Dev. J. – Engineering and Technology*; 2022, 5(4):1695-1702.