

Tổng hợp lớp phủ hợp kim kháng khuẩn bằng kỹ thuật mạ điện

Tại các bệnh viện hoặc trung tâm chăm sóc sức khỏe, vi khuẩn gây bệnh có thể bám vào tường hay bề mặt các đồ vật quen thuộc như tay nắm cửa, tay vịn giường... từ đó lan truyền đến bệnh nhân thông qua con đường tiếp xúc trực tiếp hay gián tiếp. Vì vậy, nhiều nhà khoa học trên thế giới đã đề nghị phát triển các lớp phủ có khả năng kháng khuẩn nhằm kiểm soát hiệu quả hơn hội chứng nhiễm khuẩn do chăm sóc y tế. Gần đây, nhóm nghiên cứu của TS Lone Gram thuộc Khoa Công nghệ sinh học và Y sinh (Đại học Công nghệ Đan Mạch) đã tiến hành tổng hợp lớp phủ hợp kim đồng - bạc trên vật liệu thép không gỉ bằng phương pháp mạ điện, vốn là một phương pháp đơn giản, có chi phí thấp, dễ dàng triển khai trên quy mô công nghiệp. Kết quả thực nghiệm cho thấy, nhóm nghiên cứu đã thành công trong việc tạo ra một bề mặt hợp kim kháng khuẩn hiệu quả, có khả năng ngăn cản gần như hoàn toàn quá trình bám dính của hai chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli*.

Những nguồn nhiễm khuẩn do chăm sóc y tế

Ngày nay, nhiễm khuẩn do chăm sóc y tế (healthcare-associated infections, HCAs) đang được xem là một trong những nguyên nhân chính gây tử vong cho bệnh nhân trong quá trình nhập viện điều trị. Trung tâm ngăn ngừa và kiểm soát dịch bệnh châu Âu ước tính chỉ trong thời gian từ năm 2011 đến 2012, mỗi ngày có hơn 81.000 bệnh nhân bị ảnh hưởng bởi HCAs trong các bệnh viện của châu Âu, mỗi năm có hơn 3,2 triệu người bị nhiễm khuẩn có nguồn gốc từ bệnh viện [1]. Tương tự, vào năm 2014, thống kê cho thấy khoảng 8% bệnh nhân nhập viện hơn 2 ngày trong các cơ sở chăm sóc sức khỏe đều có những vấn đề liên quan đến HCAs [2]. Đến năm 2015, con số này tăng lên 8,3% [3].

Nhiều nghiên cứu nhận định những vấn đề liên quan đến HCAs như nhiễm trùng đường tiết niệu, viêm phổi, biến chứng sau phẫu thuật... với tần suất cao như vậy thường có mối liên hệ với các thiết bị sử dụng điều trị, cũng như có thể đến từ nhiều loại vật dụng, nội thất khác nhau trong bệnh viện (tay vịn giường bệnh, khung cửa, tay nắm...) vốn có khả năng chứa vi

khuẩn, vi trùng và vì vậy dễ dàng trở thành phương tiện lan truyền và lây bệnh (hình 1). Thật vậy, việc vi khuẩn dễ dàng bám vào nhiều bề mặt khác nhau có thể dẫn đến sự hình thành các khu vực lây nhiễm đặc biệt, có độ nhạy thấp với các tác nhân kháng

khuẩn [4]. Do đó, một bề mặt có khả năng giảm đến mức tối thiểu hoặc ngăn chặn hoàn toàn sự bám dính của vi khuẩn đang được đề nghị là giải pháp hiệu quả giúp kiểm soát HCAs.



Hình 1. Nguồn vi khuẩn tiềm ẩn từ những vật dụng thông thường trong bệnh viện.

Phát triển bề mặt phủ đồng để diệt khuẩn

Xuất phát từ định hướng đó, các phương pháp xử lý bề mặt với tác nhân kháng khuẩn đã và đang được phát triển bởi nhiều nhà khoa học trên thế giới. Giữa nhiều vật liệu khác nhau, bề mặt phủ đồng là một trong những ứng viên tốt nhất do đặc tính diệt khuẩn vốn có của đồng [5, 6], đặc biệt trong những môi trường mà các kỹ thuật vệ sinh thông thường không đủ khả năng kiểm soát cũng như ngăn chặn sự lây lan của vi khuẩn, hoặc khi các tác nhân gây bệnh đã phát triển và kháng lại những hóa chất tẩy rửa thường dùng [5]. Theo Hans và các cộng sự, khi phơi bề mặt đồng trong không khí khô, đồng sẽ bị oxy hóa [7]. Tuy nhiên, sự oxy hóa này không làm suy giảm khả năng kháng khuẩn của đồng, vì thế lớp phủ đồng rất phù hợp cho mục đích bảo vệ bề mặt khỏi vi khuẩn trong thời gian dài. Mặt khác, đồng cũng là một nguyên tố cơ bản với hàm lượng vết hiện diện trong cơ thể con người, rất cần thiết cho một loạt quá trình sinh học diễn ra trong cơ thể sống. Cho đến thời điểm hiện tại, hơn 30 loại protein chứa đồng đã được phát triển [5].

Theo nhiều nghiên cứu, hoạt tính kháng khuẩn của đồng đến từ khả năng chuyển đổi thuận nghịch giữa hai trạng thái oxy hóa Cu^+ và Cu^{2+} . Cụ thể, ion đồng có thể chuyển hóa từ Cu^{2+} qua Cu^+ và ngược lại trong những điều kiện sinh học thích hợp [6]. Ở đó, Cu^+ được xem là độc đối với vi khuẩn hơn Cu^{2+} [8]. Ion Cu^+ cũng là tác nhân nhạy Fenton, trong quá trình oxy hóa từ Cu^+ lên Cu^{2+} , các ion này sẽ sản sinh ra các gốc tự do có tính oxy hóa rất mạnh, có thể oxy hóa hoàn toàn các phân tử protein của vi khuẩn [9]. Bên cạnh đó, các ion đồng tự do ở nồng độ cao có thể tấn công vào các cụm cluster Fe-S trong protein - kim loại, chẳng hạn cụm cluster Fe-S trong vi khuẩn *Escherichia coli*, chiếm các vị trí của kim loại, dẫn đến làm mất chức năng

của protein và giết chết vi khuẩn [10].

Vì vậy, đồng và các hợp kim của đồng như đồng đen và đồng thiếc đã được sử dụng rộng rãi trong các ứng dụng có tiếp xúc với da như đồ trang sức, đồ điện tử... Thú vị hơn, kể từ khi hoạt tính kháng khuẩn của đồng được tìm ra, nhiều vật dụng bằng đồng hoặc hợp kim đồng như tay nắm cửa, đồ đạc phòng tắm, bàn ghế, tay vịn... ngày càng thu hút sự quan tâm của thị trường.

Gần đây, bề mặt phủ đồng bằng phương pháp phun lạnh đã được chứng minh có khả năng tiêu diệt hiệu quả vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, vốn kháng methicillin nhờ vi cấu trúc của đồng có thể thúc đẩy sự khuếch tán ion. Cả hai loạt thử nghiệm, trong phòng thí nghiệm và trong môi trường lâm sàng đều cho thấy bề mặt hợp kim đồng kháng khuẩn hiệu quả hơn hẳn so với các vật liệu kháng khuẩn tiêu chuẩn sử dụng trong các bệnh viện với tốc độ lây nhiễm giảm 58% [11].

Lớp phủ kháng khuẩn dựa trên hợp kim đồng - bạc

Tương tự đồng, khả năng kháng khuẩn của bạc đã được biết đến rộng rãi qua nhiều thế kỷ. Hiện tại, bạc được sử dụng như tác nhân diệt khuẩn trong nhiều vật liệu sinh học khác nhau, bao gồm ống thông tiết niệu, băng vết thương và xi măng xương [12]. Bạc vốn độc tính với vi khuẩn, có khả năng ngăn cản vi khuẩn phát triển bằng cách làm mất hoạt tính các protein trên màng tế bào vi khuẩn nhờ tương tác kết nối giữa bạc với các nhóm thiol hiện diện trong protein [13]. Chính vì thế, một số nhà khoa học đã có ý tưởng kết hợp bạc và đồng để tạo thành các lớp phủ kháng khuẩn. Thực tế, sau khi kết hợp, hỗn hợp ion đồng và bạc cho thấy khả năng ức chế hiệu quả vi khuẩn *Legionella pneumophila* trong nước [14]. Đồng thời, màng mỏng đa lớp đồng - bạc phủ lên polymer ứng

dụng trong ống thông tiết niệu cũng tỏ ra hiệu quả trong việc chống lại vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* [15].

Giữa các hợp kim khác nhau của đồng và bạc, hợp kim bạc sterling (92,5% khối lượng Ag và 7,5% khối lượng Cu) là hợp kim được biết đến nhiều nhất, được sử dụng rộng rãi trong trang sức nhờ khả năng tăng cường độ bền cho trang sức do sự hiện diện của kim loại đồng. Trong khi đó, những hợp kim khác với hàm lượng đồng dao động từ 50-94% thường ít được chú ý do giới hạn về độ tan của các thành phần (8,8% khối lượng Cu nằm trong pha giàu bạc và 8% khối lượng Ag trong pha giàu đồng tại điểm eutecti). Gần đây, Hans đã chứng minh việc phủ hợp kim đồng - bạc với hàm lượng Ag chỉ 10% lên thép không gỉ thông qua quá trình tẩm ố với sự hỗ trợ của laser có thể tạo ra bề mặt kháng hiệu quả vi khuẩn *Escherichia coli* [16]. Tuy nhiên phương pháp này phức tạp, đòi hỏi chi phí vận hành cao, vì vậy vẫn chưa được triển khai rộng rãi trong thực tế.

Từ những kết quả trên, nhóm nghiên cứu của TS Lone Gram thuộc Khoa Công nghệ sinh học và Y sinh (Đại học Công nghệ Đan Mạch) đã đề nghị sử dụng phương pháp mạ điện để tổng hợp lớp phủ kháng khuẩn dựa trên hợp kim đồng - bạc cho vật liệu thép không gỉ [17]. Đây là phương pháp không chỉ cho phép chế tạo màng mỏng mà còn cho phép tái chế và sửa chữa các lớp phủ bị bong tróc một cách dễ dàng. Hơn nữa, mạ điện có giá thành thấp, đơn giản, có thể áp dụng để sản xuất ở quy mô lớn.

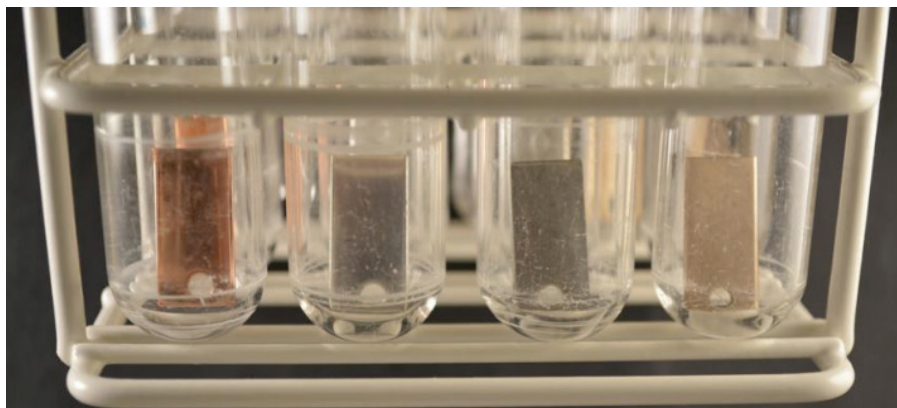
Chế tạo lớp phủ kháng khuẩn bằng phương pháp mạ điện

Quá trình mạ điện hợp kim được nhóm nghiên cứu của TS Lone Gram thực hiện trên mẫu thép AISI 316L với thành phần bao gồm: %C = 0,07, %Cr = 16,5, %Ni = 10,0, %Mn = 2,0

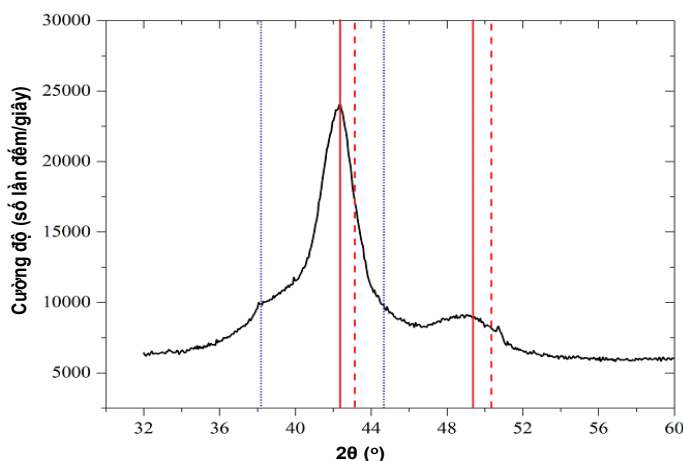
và %Fe = 71,4. Đầu tiên, các mẫu thép được tẩy rửa điện hóa trong bể chứa CN^- với điện thế $3 \pm 0,5$ V trong 2 phút, rồi được tráng rửa bề mặt bằng nước khử ion. Sau đó, các mẫu thép tiếp tục được hoạt hóa bằng kỹ thuật mạ lót nickel (Wood's nickel strike) trong bể chứa NiCl_2 ở pH thấp với cường độ dòng $4,5 \pm 0,5 \text{ A.dm}^{-2}$ trong 2 phút nhằm đảm bảo độ kết dính tốt giữa lớp mạ điện và vật liệu nền. Tiếp theo, mẫu được mạ điện với cường độ dòng 4 A.dm^{-2} trong bể chứa đồng thời đồng và bạc trong 1 phút. Quá trình mạ điện này được tiến hành 4 lần liên tục nhằm tạo ra lớp phủ có bề dày $10 \pm 0,8 \mu\text{m}$. Nhóm nghiên cứu cũng tiến hành mạ đồng và mạ bạc riêng biệt trên hai mẫu thép AISI 316L, phục vụ cho mục đích so sánh với mẫu không mạ và mẫu mạ hợp kim Cu-Ag (hình 2).

Sau khi mạ điện, lớp phủ trên mẫu thép lần lượt được phân tích bằng các phương pháp nhiễu xạ tia X, kính hiển vi điện tử quét và phổ tán sắc năng lượng tia X. Khả năng kháng khuẩn của lớp phủ cũng được đánh giá dựa trên mức độ bám dính của hai chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* 8325 và *Escherichia coli* MG1655 trên các mẫu thép.

Hình 3 thể hiện giản đồ nhiễu xạ tia X của lớp phủ hợp kim Cu-Ag sau khi được mạ lên thép AISI 316L. Theo đó, các mũi nhiễu xạ ở gần 38° và 45° được xác định thuộc về mặt mạng (111) và (200) của kim loại bạc. Nhóm nghiên cứu cũng quan sát thấy các mũi tín hiệu ở 42° và 49° tương ứng với các mặt (111) và (200) của kim loại đồng. Những mũi này có sự dịch chuyển về các góc 2θ thấp hơn so với mẫu thép chỉ mạ đồng, cho thấy một lượng bạc nhất định đã đi vào cấu trúc của đồng đối với mẫu mạ Cu-Ag, dẫn đến sự biến dạng trong ô mạng cơ sở. Thông thường, theo giản đồ pha, cả hai nguyên tố này đều không tan vào nhau ở nhiệt độ thường. Tuy nhiên, dựa vào kết quả nhiễu xạ tia X,



Hình 2. Từ trái sang phải: Mẫu thép phủ đồng, mẫu thép phủ bạc, mẫu thép không phủ và mẫu thép phủ hợp kim đồng - bạc bằng phương pháp mạ điện.



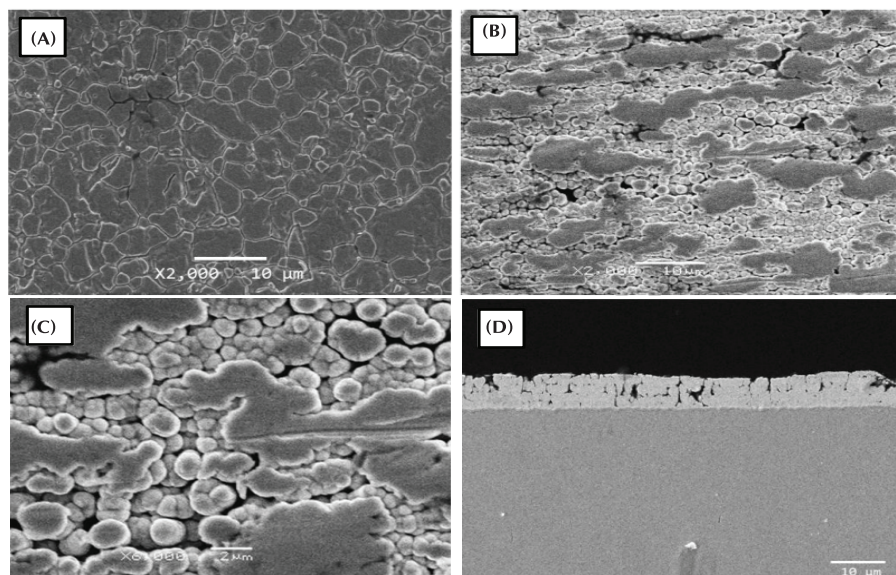
Hình 3. Giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu thép AISI 316L phủ hợp kim đồng - bạc.

lớp phủ Cu-Ag trong nghiên cứu này có thể được xem là hỗn hợp đồng thể (hợp kim) của Cu và Ag, nơi mà một phần nhỏ lượng nguyên tử bạc được phân bố vào trong cấu trúc tinh thể đồng.

Hình 4 trình bày ảnh kính hiển vi điện tử quét của hai mẫu thép chưa và đã phủ lớp hợp kim Cu-Ag. Mẫu thép không phủ cho thấy hình thái hạt đặc trưng của bề mặt thép AISI 316L. Ngược lại, ảnh kính hiển vi của lớp phủ hợp kim cho thấy hình thái vi cấu trúc đồng nhất được đặc trưng bởi độ rỗng phân tán trong toàn hệ kim loại, tương đồng với kết quả thành phần pha thể hiện qua giản đồ nhiễu xạ tia X. Quan sát ở độ phóng đại lớn hơn, nhóm nghiên cứu nhận thấy quá trình

mạ điện đã kết tủa thành công các hạt hợp kim Cu-Ag lên trên hạt thép cũng như trên biên giới giữa các hạt thép. Ngoài ra hình ảnh mặt cắt của lớp phủ cũng cho thấy các lỗ rỗng hiện diện trên bề mặt lớp phủ không xâm nhập sâu vào chất nền thép, lớp phủ kết dính tốt với bề mặt thép ở cấp độ vi mô. Thành phần nguyên tử của lớp hợp kim cũng được xác định thông qua phổ tán xạ năng lượng tia X, theo đó hàm lượng Cu và Ag trong lớp phủ lần lượt là $59 \pm 2\%$ và $39 \pm 2\%$.

Để khảo sát khả năng chống bám dính của các mẫu thép đối với hai chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* 8325 và *Escherichia coli* MG1655, nhóm nghiên cứu của TS Lone Gram đã tiến hành nuôi cấy vi



Hình 4. Ảnh kính hiển vi điện tử của các mẫu thép: (A) mẫu thép không phủ ở độ phóng đại 2000 lần, (B) mẫu thép phủ hợp kim Cu-Ag ở độ phóng đại 2000 lần, (C) mẫu thép phủ hợp kim Cu-Ag ở độ phóng đại 6000 lần, (D) hình chụp cắt lớp của mẫu thép phủ hợp kim Cu-Ag.

khẩn trong thạch dinh dưỡng từ môi trường lưu trữ ở -80°C , sau đó tiêm vào dung dịch đệm phosphate chứa các mẫu thép với nồng độ đầu của vi khuẩn là 10^7 CFU/ml. Kết quả cho thấy, nhờ hàm lượng Cu và Ag cao trên bề mặt, mẫu thép AISI 316L thể hiện khả năng chống bám dính rất tốt đối với cả hai chủng vi khuẩn. Cụ thể, đối với vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, sau nửa giờ, hàm lượng vi khuẩn dính trên bề mặt mẫu có phủ hợp kim Cu-Ag chỉ đạt giá trị $\log(\text{CFU}/\text{cm}^2) = 0,1 \pm 0,1$, trong khi giá trị này lần lượt là $4,7 \pm 0,1$, $2,5 \pm 0,7$ và $4,9 \pm 0,1$ đối với mẫu thép chưa xử lý, mẫu thép đã phủ đồng và mẫu thép đã phủ bạc. Tương tự, đối với vi khuẩn *Escherichia coli*, sau 24 giờ thử nghiệm, nhóm nghiên cứu không phát hiện thấy vi khuẩn trên mẫu thép phủ hợp kim Cu-Ag (hàm lượng thấp dưới mức phát hiện), ngược lại lượng vi khuẩn trên mẫu thép nguyên không phủ đạt đến giá trị $\log(\text{CFU}/\text{cm}^2) = 2,5 \pm 0,4$.

Như vậy, bằng phương pháp mạ điện đơn giản, TS Lone Gram cùng các cộng sự đã thành công trong việc

tạo ra một lớp phủ đồng nhất chứa hai kim loại Cu và Ag với khả năng chống bám dính vượt trội đối với các loại vi khuẩn. Những kết quả này không chỉ cung cấp một giải pháp tiềm năng cho mục tiêu chống HCAs trong các bệnh viện và trung tâm y tế mà còn chứng tỏ tính khả thi trong việc kết hợp đồng và bạc, vốn là những kim loại độc với vi khuẩn nhằm gia tăng khả năng kháng khuẩn cho vật liệu.

Lê Tiến Khoa (tổng hợp)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] European Centre for Disease Prevention and Control (2013), *Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in european hospitals 2011-2012*, Stockholm.
- [2] European Centre for Disease Prevention and Control (2015), *Annual Epidemiological Report 2015 - Healthcare-associated infections acquired in intensive care units*, Stockholm.
- [3] European Centre for Disease Prevention and Control (2016), *Annual epidemiological report for 2016 - Healthcare-associated infections acquired in intensive care units*, Stockholm.
- [4] J.M. Boyce (2014), "Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection", *J. Hosp. Infect.*, **65**, pp.50-54.

[5] G. Grass, C. Rensing, M. Solioz (2011), "Metallic copper as an antimicrobial surface", *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, pp.1541-1547.

[6] J.A. Lemire, J.J. Harrison, R.J. Turner (2013), "Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications", *Nat. Rev. Microbiol.*, **11**, pp.371-384.

[7] M. Hans, A. Erbe, S. Mathews, Y. Chen, M. Solioz, F. Mücklich (2013), "Role of copper oxides in contact killing of bacteria", *Langmuir*, **29**, pp.16160-16166.

[8] H.K. Abicht, Y. Gonskikh, S.D. Gerber, M. Solioz (2013), "Non-enzymic copper reduction by menaquinone enhances copper toxicity in *Lactococcus lactis* IL1403", *Microbiol.*, **159**, pp.1190-1197.

[9] C.E. Santo, E.W. Lam, C.G. Elowsky, D. Quaranta, D.W. Domaille, C.J. Chang, G. Grass (2011), "Bacterial killing by dry metallic copper surfaces", *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, pp.794-802.

[10] M. Zeiger, M. Solioz, H. Edongué, E. Arzt, A.S. Schneider (2014), "Surface structure influences contact killing of bacteria by copper", *MicrobiologyOpen*, **3**, pp.327-332.

[11] H.T. Michels, C.W. Keevil, C.D. Salgado, M.G. Schmidt (2015), "From laboratory research to a clinical trial: copper alloy surfaces kill bacteria and reduce hospital-acquired infections", *Heal. Environ. Res. Des. J.*, **9**, pp.64-79.

[12] A.B.G. Lansdown, A. Williams, S. Chandler, S. Benfield (2015), "Silver absorption and antibacterial efficacy of silver dressings", *J. Wound Care*, **14**, pp.155-160.

[13] T.C. Dakal, A. Kumar, R.S. Majumdar, V. Yadav (2016), "Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles", *Front. Microbiol.*, **7**, pp.1-17.

[14] Y.S.E. Lin, R.D. Vidic, J.E. Stout, V.L. Yu (1996), "Individual and combined effects of copper and silver ions on inactivation of *Legionella pneumophila*", *Water Res.*, **30**, pp.1905-1913.

[15] R.J.C. McLean, A.A. Hussain, M. Sayer, P.J. Vincent, D.J. Hughes, T.J.N. Smith (1993), "Antibacterial activity of multilayer silver-copper surface films on catheter material", *Can. J. Microbiol.*, **39**, pp.895-899.

[16] M. Hans, J.C. Támara, S. Mathews, B. Bax, A. Hegetschweiler, R. Kautenburger, M. Solioz, F. Mücklich (2014), "Laser cladding of stainless steel with a copper-silver alloy to generate surfaces of high antimicrobial activity", *Appl. Surf. Sci.*, **320**, pp.195-199.

[17] N. Ciacotich, R.U. Din, J.J. Sloth, P. Möller, L. Gram (2018), "An electroplated copper-silver alloy as antibacterial coating on stainless steel", *Surf. Coat. Tech.*, **345**, pp.96-104.