

# NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO VẬT LIỆU SƠ CẤP CỨU TRÊN NỀN CHITOSAN

Lê Việt Hoàng<sup>1,3\*</sup>, Nguyễn Minh Nhật<sup>2,3</sup>, Trần Lê Bảo Hà<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Phòng Thí nghiệm Kỹ nghệ mô và Vật liệu Y sinh, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Khoa Sinh học – Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

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

## TÓM TẮT

Nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng chitosan có khả năng thúc đẩy tốc độ phản ứng đông máu và có hoạt tính kháng khuẩn. Hai đặc tính này đồng thời cũng là hai yêu cầu hàng đầu đối với một vật liệu sơ cấp cứu. Trong nghiên cứu này, hai loại vật liệu sơ cấp cứu dạng lỏng CS-MC và CS-MP đã được chế tạo trên nền chitosan. Hai loại vật liệu CS-MC và CS-MP đều đạt độ vô khuẩn theo GMP-WHO và kháng được ba loài vi khuẩn có tỷ lệ thường gặp cao nhất trên vết thương, bao gồm tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus*, trực khuẩn mủ xanh *Pseudomonas aeruginosa* và trực khuẩn lỵ *Escherichia coli*. Bên cạnh đó, các kết quả thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* cũng đã chứng minh rằng hai loại vật liệu này đều có khả năng kích hoạt tốc độ phản ứng đông máu nhanh hơn so với điều kiện bình thường. Do đó, CS-MC và CS-MP hoàn toàn là hai loại vật liệu có nguồn gốc sinh học phù hợp ứng dụng trong sơ cấp cứu, mang đồng thời các đặc tính cầm máu, sát khuẩn và sẵn sàng sử dụng.

*Từ khóa:* Chitosan, đông máu *in vitro*, đông máu *in vivo*, kháng khuẩn, sơ cấp cứu.

## MỞ ĐẦU

Ngay tại thời điểm xuất hiện vết thương hở ngoài da, cầm máu và sát khuẩn là hai công đoạn cần phải thực hiện ngay lập tức nhằm hạn chế các biến chứng của vết thương và sự xâm nhập của các loài vi khuẩn vào bên trong cơ thể thông qua cầu nối này. Băng gòn và gạc tiệt trùng là hai loại vật liệu cầm máu bằng phương pháp ép chặt trên bề mặt vết thương thường được sử dụng phổ biến. Tuy nhiên, hai loại vật liệu truyền thống này không thể tương thích với tất cả hình dạng vết thương, thường rất dễ bị nhiễm khuẩn và dễ gây đau đớn cho bệnh nhân khi thay băng. Do đó, các nghiên cứu chế tạo vật liệu sơ cấp cứu thế hệ mới, mang đồng thời các đặc tính cầm máu, sát khuẩn và sẵn sàng sử dụng là thực sự cần thiết.

Chitosan (CS) là một đại phân tử sinh học có nguồn gốc từ chitin. Trong nhiều thập kỷ gần đây, CS là đối tượng được chú trọng trong nhiều nghiên cứu thuộc lĩnh vực vật liệu sinh học, y học và dược học. CS có khả năng kích thích sự kết dính hồng cầu, hấp phụ fibrinogen và kích hoạt tiểu cầu, qua đó thúc đẩy tốc độ phản ứng đông máu (He et al., 2013; Wang et al., 2021). Hơn nữa, với vai trò là một đại phân tử sinh học tích điện dương, CS dễ dàng tương tác với các nhóm tích điện âm trên bề mặt tế bào vi khuẩn, gây ra sự biến đổi và phá vỡ cấu trúc tế bào, dẫn đến sự ly giải của tế bào (Ahmed et al., 2014; Moratti & Cabral, 2017). Cation  $Mg^{2+}$  có khả năng kích hoạt phản ứng đông máu độc lập, hoàn toàn không phụ thuộc vào bất kỳ yếu tố đông máu nào (Hense & Strube, 2023). Anion  $(ClO_4)^-$  là tác nhân oxy hóa mạnh, có khả năng tăng cường kết dính hồng cầu và hoạt hóa tiểu cầu (Lopes-Pires et al., 2021). Do đó, CS khi kết hợp cùng cation  $Mg^{2+}$  và anion  $(ClO_4)^-$  có thể được phát triển thành một loại vật liệu có nguồn gốc sinh học mang đồng thời các đặc tính cầm máu, sát khuẩn và sẵn sàng sử dụng.

Trong nghiên cứu này, hai loại vật liệu sơ cấp cứu trên nền chitosan được chế tạo và thử nghiệm các đặc tính vô khuẩn, tính kháng đối với một số loài vi khuẩn thường gặp trên vết thương, và khả năng kích hoạt nhanh tốc độ phản ứng đông máu.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Nguyên liệu

CS dạng rắn (có trọng lượng phân tử không quá 200 kDa) được cung cấp bởi Công ty TNHH Sản xuất giống Cá tra Vinh Hoàn. Các loài vi khuẩn tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. aureus*), trực khuẩn mủ xanh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*P. aeruginosa*) và trực khuẩn lỵ *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*) được cung cấp bởi American Type Culture Collection (ATCC). Máu toàn phần được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Kỹ nghệ mô và Vật liệu Y sinh, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (mua từ Trung tâm Truyền máu Huyết học). Chuột nhắt trắng *Mus musculus* được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Kỹ nghệ mô và Vật liệu Y sinh, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

**Phương pháp**

**Phương pháp chế tạo vật liệu sơ cấp cứu trên nền CS**

Hỗn hợp rắn chứa CS và các tá dược khác, bao gồm calcium chloride, magnesium chloride hoặc magnesium perchlorate được đóng gói trong ống nhựa, sau đó được chiếu xạ khử trùng bằng tia gamma với liều 25 kGy. Dung môi hoà tan được đóng gói trong chai thủy tinh chịu nhiệt, sau đó được hấp khử trùng ở 121°C, dưới áp suất 15 psi trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp rắn chứa CS và các tá dược được hoà tan hoàn toàn trong dung môi ở điều kiện vô khuẩn theo GMP-WHO nhằm thu nhận hai loại vật liệu sơ cấp cứu dạng lỏng CS-MC (chứa CS, CaCl<sub>2</sub> và MgCl<sub>2</sub>) và CS-MP (chứa CS, CaCl<sub>2</sub> và Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>).

**Phương pháp thử nghiệm đánh giá độ vô khuẩn**

Hai loại vật liệu sơ cấp cứu CS-MC và CS-MP được thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường thạch Luria Bertani (LB). Trong buồng thao tác vô trùng, 1 mL vật liệu CS-MC hoặc CS-MP được trải đều trên các đĩa thạch LB đường kính 90 mm. Đối chứng (-) trong thử nghiệm là đĩa thạch LB không trải vật liệu, và đậy nắp kín. Đối chứng dương (+) trong thử nghiệm cũng là đĩa thạch LB không trải vật liệu, nhưng không đậy nắp và được đặt tại phòng đệm có độ sạch cấp D theo GMP-WHO trong 4 giờ đầu thử nghiệm. Sau 20 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C, số lượng đơn vị hình thành khuẩn lạc (Colony Forming Units, CFU) được xác định bằng phương pháp đếm thủ công.

**Phương pháp thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn**

Hoạt tính kháng khuẩn của hai loại vật liệu sơ cấp cứu CS-MC và CS-MP được thử nghiệm bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường thạch LB. Các loài vi khuẩn được khảo sát trong thử nghiệm bao gồm *S. aureus*, *P. aeruginosa* và *E. coli*. Mật độ vi khuẩn được nuôi cấy khoảng 1,5×10<sup>8</sup> CFU/mL, được xác định bằng phương pháp so sánh độ đục của dịch vi khuẩn với độ đục tiêu chuẩn 0,5 Mc Farland. Độ đục tiêu chuẩn 0,5 Mc Farland được chuẩn bị bằng phương pháp trộn dung dịch barium chloride 1% với dung dịch sulfuric acid 1% theo tỷ lệ thể tích lần lượt là 1:199, có mức độ hấp thụ ánh sáng khoảng từ 0,08 đến 0,1 và độ truyền suốt khoảng từ 74,0 đến 74,5% đối với chùm tia sáng có bước sóng λ = 600 nm.

Trong buồng thao tác vi sinh, ở khu vực cách ngọn lửa đèn cồn không quá 10 cm, 0,1 mL dịch vi khuẩn có chứa 1,5×10<sup>7</sup> CFU được trải đều trên các đĩa thạch LB đường kính 9 mm. Sau khi dịch vi khuẩn trên các đĩa thạch đã khô ráo, các đĩa này được đục một lỗ hình tròn có đường kính không quá 1/10 đường kính đĩa tại vị trí trung tâm. 0,5 mL vật liệu CS-MC hoặc CS-MP được nạp vào các lỗ này. Sau 24 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C, hoạt tính kháng các loài vi khuẩn *S. aureus*, *P. aeruginosa* và *E. coli* được xác định bằng phương pháp đo đường kính vòng kháng khuẩn với độ chính xác 0,5 mm.

**Phương pháp thử nghiệm khả năng đông máu in vitro**

Khả năng đông máu *in vitro* của hai loại vật liệu sơ cấp cứu CS-MC và CS-MP được thử nghiệm trên các mẫu máu toàn phần với phương pháp chống đông máu bằng EDTA. Trong buồng thao tác vô trùng, 1 mL vật liệu CS-MC hoặc CS-MP và 0,1 mL máu toàn phần được trải đều trên các đĩa nhựa đường kính 90 mm. Đối chứng (-) trong thử nghiệm là đĩa nhựa không trải vật liệu, chỉ trải 0,1 mL máu toàn phần. Thời gian đông máu *in vitro* của hai loại vật liệu được ghi nhận bằng đồng hồ bấm giây.

**Phương pháp thử nghiệm khả năng đông máu in vivo**

Khả năng đông máu *in vivo* của hai loại vật liệu sơ cấp cứu CS-MC và CS-MP được thử nghiệm đối với các vết thương hở ngoài da trên mô hình chi trước hoặc chi sau của chuột nhắt trắng *Mus musculus*. Trong buồng thao tác giải phẫu động vật, ở khu vực cách ngọn lửa đèn cồn không quá 10 cm, 1 mL vật liệu CS-MC hoặc CS-MP được trải đều trên các vết thương hở. Đối chứng (-) trong thử nghiệm là vết thương hở không trải vật liệu. Thời gian đông máu *in vivo* của hai loại vật liệu được ghi nhận bằng đồng hồ bấm giây.

**Phương pháp thu thập và phân tích số liệu**

Tất cả các thử nghiệm trong nghiên cứu này đều có số lần lặp lại n = 3 hoặc n = 9. Số liệu thử nghiệm được phân tích khác biệt trung bình one-way ANOVA với mức ý nghĩa α = 0,05 bằng phần mềm Microsoft Excel for Mac version 16.86 và GraphPad Prism for MacOS version 10.2.3.

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Độ vô khuẩn**

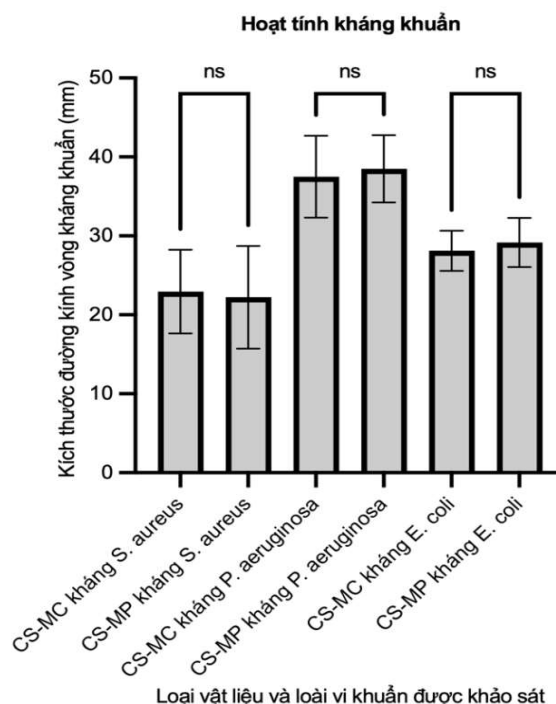
Sau 20 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C, trên môi trường thạch LB, các đĩa được trải 1 mL vật liệu CS-MC hoặc CS-MP, cũng như đối chứng (-) đều không phát hiện khuẩn lạc (**Bảng 1**). Đối với đĩa đối chứng (+), 25 – 82 khuẩn lạc đã được phát hiện, phù hợp với quy định về ngưỡng CFU cho phép tại nơi đặt đĩa (phòng đệm có độ sạch cấp D theo GMP-WHO) (**Bảng 1**). Kết quả phân tích khác biệt trung bình one-way ANOVA đã chứng minh rằng, so với đối chứng (+), số lượng CFU trên môi trường thạch LB của các đĩa được trải vật liệu CS-MC hoặc CS-MP và đĩa đối chứng (-) khác biệt có ý nghĩa thống kê (n = 3, p < 0,05). Hai loại vật liệu sơ cấp cứu trên nền chitosan CS-MC và CS-MP đã được chế tạo có đặc tính vô khuẩn với số lượng CFU trên đĩa có đường kính 90 mm ít hơn 1 (**Bảng 1**).

**Bảng 1. Độ vô khuẩn của hai loại chế phẩm CS-MC và CS-MP**

	CS-MC	CS-MP	(-)	(+)
<b>Số lượng CFU (đơn vị)</b>	Không phát hiện	Không phát hiện	Không phát hiện	25 – 82

**Hoạt tính kháng khuẩn**

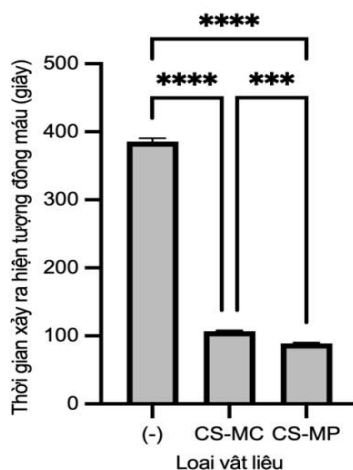
Ngay tại thời điểm xuất hiện vết thương hở ngoài da, bệnh nhân hoàn toàn có nguy cơ nhiễm khuẩn do một số loài vi khuẩn ngay lập tức có thể xâm nhập vào bên trong cơ thể thông qua cầu nối này. Trong nhiều nghiên cứu lâm sàng, hàng trăm loài vi khuẩn thường xuất hiện trên các vết thương đã được xác định bằng các phương pháp phân lập, nuôi cấy, định danh hình thái và định danh sinh học phân tử. Đơn nhiễm, hay còn được hiểu là sự xuất hiện của một loài vi khuẩn duy nhất trên vết thương, là tình trạng thường gặp nhất, chiếm đến hơn 75% số lượng ca bệnh (Puca et al., 2021). Gần 25% số lượng ca bệnh còn lại thuộc về đa nhiễm, hay còn được hiểu là sự xuất hiện của ít nhất hai loài vi khuẩn trên vết thương (Puca et al., 2021). *S. aureus*, *P. aeruginosa* và *E. coli* là ba loài vi khuẩn có tỷ lệ thường gặp cao nhất trên vết thương, lần lượt là 29,1%, 23,3%, và 12,0% (Puca et al., 2021). Do đó, hoạt tính kháng khuẩn của hai loại vật liệu sơ cấp cứu CS-MC và CS-MP đã được khảo sát đối với ba loài vi khuẩn này. Sau 24 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C, trên môi trường thạch LB, từ 0,1 mL dịch vi khuẩn có chứa  $1,5 \times 10^7$  CFU ban đầu, khuẩn lạc đã dàn trải đều trên toàn bộ bề mặt thạch, ngoại trừ vị trí lỗ thạch và vòng xung quanh lỗ thạch. Kích thước đường kính vòng kháng *S. aureus* được tạo ra từ hai loại vật liệu CS-MC và CS-MP lần lượt là  $23 \pm 5$  và  $22 \pm 7$  mm (Hình 1). Tương tự, kích thước đường kính vòng kháng *P. aeruginosa* lần lượt là  $38 \pm 5$  và  $39 \pm 4$  mm và *E. coli* lần lượt là  $28 \pm 3$  và  $29 \pm 3$  mm (Hình 1). Kết quả phân tích khác biệt trung bình one-way ANOVA đã chứng minh rằng đối với cùng một loài vi khuẩn *S. aureus* hoặc *P. aeruginosa* hoặc *E. coli*, kích thước đường kính vòng kháng khuẩn do hai loại vật liệu CS-MC và CS-MP tạo ra khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $n = 9, p > 0,05$ ). Do đó, khả năng kháng khuẩn của hai loại vật liệu này đối với các loài vi khuẩn đã khảo sát là như nhau. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn hoàn toàn tương đồng với các giả thuyết cơ chế đã công bố trong nhiều nghiên cứu trước đây. Với vai trò là một đại phân tử sinh học tích điện dương, CS dễ dàng tương tác với các nhóm tích điện âm trên bề mặt tế bào vi khuẩn, gây ra sự biến đổi và phá vỡ cấu trúc tế bào, dẫn đến sự ly giải của tế bào (Ahmed et al., 2014; Moratti & Cabral, 2017).



**Hình 1. Hoạt tính kháng *S. aureus*, *P. aeruginosa* và *E. coli* của hai loại chế phẩm CS-MC và CS-MP**

**Khả năng đông máu *in vitro***

Khả năng đông máu của hai loại vật liệu sơ cấp cứu CS-MC và CS-MP được khảo sát đối với 0,1 mL máu toàn phần. Tính từ thời điểm máu toàn phần và vật liệu CS-MC hoặc CS-MP được hoà trộn đồng đều, hiện tượng đông máu xuất hiện chỉ trong thời gian dưới 110 giây (Hình 2). Đối với đối chứng (-) trong thử nghiệm, thời gian đủ để hiện tượng đông máu xuất hiện mất ít nhất 380 giây (Hình 2). Kết quả phân tích khác biệt trung bình one-way ANOVA đã chứng minh rằng, khi so sánh với đối chứng (-), thời gian hiện tượng đông máu xuất hiện dưới tác dụng của từng loại vật liệu khác biệt có ý nghĩa thống kê theo từng cặp ( $n = 3, p < 0,05$ ). Do đó, hai loại vật liệu CS-MC và CS-MP đều có khả năng kích hoạt phản ứng đông máu nhanh hơn so với điều kiện bình thường.

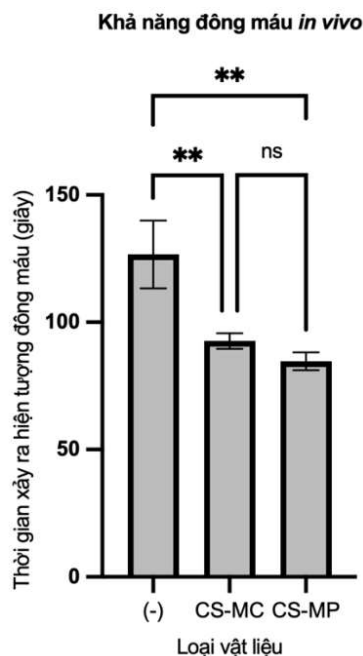


Hình 2. Khả năng xúc tác đông máu *in vitro* của hai loại chế phẩm CS-MC và CS-MP

Trong một nghiên cứu khác, CS dạng rắn CS-HU đã được thử nghiệm khả năng đông máu *in vitro* đối với các mẫu máu từ thỏ (Hu et al., 2018). Với tỷ lệ vật liệu CS-HU:máu được khảo sát là 0,05 g:1 mL, thời gian đủ để hiện tượng đông máu xuất hiện dưới 1025 giây (Hu et al., 2018). Đối với đối chứng (-) trong thử nghiệm, tại thời điểm 1800 giây, hiện tượng đông máu vẫn chưa xuất hiện (Hu et al., 2018).

### Khả năng đông máu *in vivo*

Khả năng đông máu của hai loại vật liệu sơ cấp cứu CS-MC và CS-MP được khảo sát trên mô hình chi trước hoặc chi sau của chuột nhắt trắng *Mus musculus*. Tính từ thời điểm 1 mL vật liệu CS-MC hoặc CS-MP được trải đều trên các vết thương hở, hiện tượng đông máu xuất hiện chỉ trong thời gian dưới 100 giây (Hình 3). Đối với đối chứng (-) trong thử nghiệm, thời gian đủ để hiện tượng đông máu xuất hiện mất ít nhất 118 giây (Hình 3). Kết quả phân tích khác biệt trung bình one-way ANOVA đã chứng minh rằng, thời gian hiện tượng đông máu xuất hiện dưới tác dụng CS-MC hoặc CS-MP khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $n = 3, p > 0,05$ ). So sánh với đối chứng (-), thời gian hiện tượng đông máu xuất hiện dưới tác dụng của từng loại vật liệu khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $n = 3, p < 0,05$ ). Do đó, thời gian kích hoạt phản ứng đông máu trên mô hình *in vivo* dưới tác dụng của hai loại vật liệu CS-MC và CS-MP là như nhau.



Hình 3. Khả năng đông máu *in vitro* của hai loại chế phẩm CS-MC và CS-MP

Kết quả thử nghiệm khả năng đông máu *in vitro* và *in vivo* hoàn toàn tương đồng với các giả thuyết cơ chế đã công bố trong nhiều nghiên cứu trước đây. Với vai trò là một đại phân tử sinh học tích điện dương, CS hoàn toàn có khả năng kích thích sự kết dính hồng cầu, hấp phụ fibrinogen và kích hoạt tiểu cầu, thúc đẩy tốc độ phản ứng đông máu (He et al., 2013; Wang et al., 2021).

## KẾT LUẬN

Hai loại vật liệu sơ cấp cứu trên nền chitosan CS-MC và CS-MP đã được chế tạo có đặc tính vô khuẩn và kháng được ba loài vi khuẩn có tỷ lệ thường gặp cao nhất trên vết thương, bao gồm tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus*, trực khuẩn mủ xanh *Pseudomonas aeruginosa* và trực khuẩn lị *Escherichia coli*. Các kết quả thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* cũng đã chứng minh rằng hai loại vật liệu này đều có khả năng kích hoạt tốc độ phản ứng đông máu nhanh hơn so với điều kiện bình thường. Do đó, CS-MC và CS-MP hoàn toàn là hai loại vật liệu có nguồn gốc sinh học phù hợp ứng dụng trong sơ cấp cứu, mang đồng thời các đặc tính cầm máu, sát khuẩn và sẵn sàng sử dụng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmed, S., Ahmad, M., & Ikram, S. (2014). Chitosan: a natural antimicrobial agent-a review. *Journal of Applicable Chemistry*, 3(2), 493-503.
- He, Q., Gong, K., Ao, Q., Ma, T., Yan, Y., Gong, Y., & Zhang, X. (2013). Positive charge of chitosan retards blood coagulation on chitosan films. *Journal of biomaterials applications*, 27(8), 1032-1045.
- Hense, D., & Strube, O. I. (2023). Thrombin-Free Fibrillogenesis and Gelation of Fibrinogen Triggered by Magnesium Sulfate. *Gels*, 9(11), 892.
- Hu, Z., Lu, S., Cheng, Y., Kong, S., Li, S., Li, C., & Yang, L. (2018). Investigation of the effects of molecular parameters on the hemostatic properties of chitosan. *Molecules*, 23(12), 3147.
- Lopes-Pires, M. E., Frade-Guanaes, J. O., & Quinlan, G. J. (2021). Clotting dysfunction in sepsis: a role for ROS and potential for therapeutic intervention. *Antioxidants*, 11(1), 88.
- Moratti, S., & Cabral, J. (2017). Antibacterial properties of chitosan. In *Chitosan Based Biomaterials Volume 1* (pp. 31-44). Elsevier.
- Puca, V., Marulli, R. Z., Grande, R., Vitale, I., Niro, A., Molinaro, G., Prezioso, S., Muraro, R., & Di Giovanni, P. (2021). Microbial species isolated from infected wounds and antimicrobial resistance analysis: Data emerging from a three-years retrospective study. *Antibiotics*, 10(10), 1162.
- Wang, C.-H., Cherng, J.-H., Liu, C.-C., Fang, T.-J., Hong, Z.-J., Chang, S.-J., Fan, G.-Y., & Hsu, S.-D. (2021). Procoagulant and antimicrobial effects of chitosan in wound healing. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7067.

## STUDY ON CREATING CHITOSAN-BASED FIRST AID MATERIALS

Hoang Viet Le<sup>1,3\*</sup>, Nhut Minh Nguyen<sup>2,3</sup>, Ha Le Bao Tran<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Tissue Engineering and Biomedical Materials, University of Science, VNU-HCM, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, VNU-HCM, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

## SUMMARY

Previous studies have demonstrated that chitosan has the ability to promote the process of coagulation and antibacterial activity. These properties are also the requirements for a first aid material. In this study, chitosan-based first aid materials CS-MC and CS-MP were created in a GMP-WHO laboratory. CS-MC and CS-MP materials were sterilized and resistant to the three most common bacteria found in wounds, including *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*. In addition, *in vitro* and *in vivo* test results also demonstrated that CS-MC and CS-MP materials were capable of activating the rate of blood coagulation reaction faster than under normal conditions. Therefore, CS-MC and CS-MP are biological materials suitable for first aid applications, with the advantages of being hemostatic, antiseptic and ready-to-use.

**Keywords:** Antibacterial test, chitosan, first aid, *in vitro* coagulation test, *in vivo* coagulation test.

\* Author for correspondence: Tel: 0902087083; Email: lvhoang@hcmus.edu.vn