AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم پزشکی البرز، زمستان ۱۳۹۹، سال ۱۰، شماره ۱، صفحه‌های ۶۰-۶۸
مقاله تحقیقی

# بررسی تأثیر پلاسما سرد به روش گلایدینگ آرک بر پایه گازهای آرگون، هلیوم و هوای فشرده بر باکتری‌های ناحیه اطراف زخم در محیط آزمایشگاه

امیرحسین صناعت [۱و۲*]، شیرین ریاحی [۳]

[۱] دانشکده فیزیک و مهندسی هسته‌ای دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران
[۲] دانشکده پزشکی ، بیمارستان دانشگاهی ژنو ، دانشگاه ژنو
[۳] مرکز تحقیقات بیماری های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

تاریخ دریافت مقاله:۹۸/۱/۱۵؛ تاریخ پذیرش:۹۹/٤/۲٦

## چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه استفاده از پلاسمای سرد و کاربردهای حاصل از آن مورد توجه بسیار زیادی قرار گرفته است. پلاسما ترکیبی از اکسیژن فعال و یون‌های منفی و فعال است. این ترکیب تأثیر بسیار مؤثری جهت از بین بردن انواع باکتری و ویروس ارائه می‌دهد. در این مطالعه قصد داریم برای اولین بار تأثیر ناحیه سرد پلاسما گلایدینگ آرک را بر نابودی دو نوع باکتری بسیار مهم و رایج به نام‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا که در نواحی اطراف جراحت یافت می‌شود؛ مورد پژوهش قرار دهیم.

**مواد و روش‌ها:** این پژوهش یک مطالعه تجربی است که در آن تاثیر پلاسمای سرد مبتنی بر سه گاز هلیوم، آرگون و هوای فشرده را بر دو نوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در بازه‌های زمانی ۱۰، ۱۵، ۳۰، ٤٥، ٦٠، ۱۸۰ و ۳۰۰ ثانیه مورد ارزیابی قرار می دهد. ظرف‌های حاوی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به مدت ۱۲ ساعت جهت رشد باکتری‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در روز بعد کلونی‌های شکل گرفته شده، شمارش شد و سپس پلاسما به روش گلایدینگ آرک در فشار اتمسفری و توسط تورچ به باکتری‌های کاشت شده تابانیده شد. تأثیر پلاسما جهت نابودی باکتری‌ها مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** در این پژوهش تابش دوز بالایی از پلاسما، سبب نابودی چشمگیر باکتری‌ها و کاهش کلونی‌های باکتریایی گردید. تقریباً پس از ۱ دقیقه تابش پلاسمای هوای فشرده ۹۹/۹ درصد از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نابود گردید. بهترین نتایج در حضور پلاسمای آرگون و هوای فشرده حاصل می‌شود به گونه‌ای که پس از تابش ۱ دقیقه‌ای پلاسما آرگون و هوای فشرده ۹۰٪ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت $10^2$ نابود گردید، این در حالی است که هلیوم تأثیر ناچیزی بر باکتری‌ها داشت.

**نتیجه‌گیری:** این پژوهش نشان می‌دهد که باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا نسبت به پلاسما حساس‌تر می‌باشند و زودتر از بین می‌روند.

**کلمات کلیدی:** پلاسما سرد، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، باکتری سودوموناس آئروژینوزا، ضدعفونی

**نویسنده مسئول:**
دانشکده فیزیک و مهندسی هسته‌ای دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

۰۹۳۵۳۷۵۹۸۱۶
E-mail: amir.sanaat@yahoo.com

## مقدمه

در حال حاضر کنترل عفونت در تمامی حوزه‌های درمانی مورد توجه بسیاری از افراد و گروه‌های تحقیقاتی قرار دارد. در این میان مدیریت جراحت‌های عفونی اهمیت بسیار بالاتری نسبت به دیگر حوزه های کنترل عفونت دارد. یکی از مشکلات اساسی تجمع باکتریایی و جایگذاری رد زخم در ناحیه جراحت می‌باشد که می‌تواند سبب واکنش‌های التهابی، گسترش عفونت و به جای ماندن رد زخم شود[۱]. تمامی باکتری‌های موجود در ناحیه جراحت یکسان عمل نمی‌کنند و هریک از آن‌ها مقاومت متفاوتی به روش‌های نابودسازی نشان می‌دهند[۲]. با توجه به اهمیت و نگرانی‌های ناشی از وجود دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در ناحیه جراحت‌ها که به‌شدت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است، علاقه و توجه بسیاری برای پیدا کردن مؤثرترین روش‌های درمانی وجود دارد[۳].

امروزه علم پلاسما به عنوان علمی جدید و پرکاربرد مورد توجه بسیار زیادی قرار گرفته است و بسیاری از محققان آن را راه حلی جدید جهت فائق آمدن بر بسیاری از مشکلات در حوزه پزشکی، درمان و سلامت می‌دانند. پلاسما گازی یونیزه و ترکیبی از اکسیژن فعال و یون‌های منفی و فعال است که به دو صورت پلاسما فشار پایین و پلاسمای اتمسفری مورد استفاده قرار می‌گیرد[۴]. در حال حاضر پلاسمای اتمسفری به دلیل سهولت در تولید و به‌کارگیری و همچنین هزینه پایین مورد توجه بسیاری قرار گرفته است[۵].

پلاسمای سرد اتمسفری به عنوان پلاسمای غیر مخرب شناخته می‌شود که هیچ‌گونه تأثیر جانبی بر روی سلول‌های زنده ندارد. تولید پلاسمایی که بتواند چنین شرایطی را مهیا کند نسبتاً دشوار می‌باشد. این نوع از پلاسما باید غیرحرارتی، غیرسمی، حساسیت زدا و دارای دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بوده، میدان الکتریکی بالا نداشته باشد و در فشار اتمسفری تولید گردد[۶-۸].

پلاسمای گلایدینگ آرک نوعی پلاسما سرد است که از طریق اعمال میدان الکتریکی در راستای شارش گاز تولید می‌شود که دارای دو ناحیه سرد و گرم می باشد. در این روش یک منبع AC ولتاژ مورد نیاز برای تخلیه الکتریکی در راستای شارش گاز مورد نظر را ایجاد می‌کند. گاز مورد نظر می‌تواند از گازهای مختلفی همچون آرگون، هوای فشرده، اکسیژن، نیتروژن و یا ترکیب آنها باشد. در هنگام تماس پلاسما با سطح ماده مجموعه‌ای از واکنش‌های اتفاق می افتد که سبب ضد عفونی سطح مورد نظر می‌شود[۹].

درک اصول کارکرد استریلیزاسیون پلاسما، اطلاعات ارزشمند از تاثیرات پلاسما بر روی مواد بیولوژیکی را به ما می‌دهد. تحقیقات نشان داده است که چهار عامل مؤثر در نابودی باکتری‌ها و ویروس‌ها که در تخریب پاتوژن ها و عوامل شیمیایی شرکت می‌کنند شامل گرما، اشعه ماوراء بنفش، ذرات خنثی واکنش پذیر و ذرات باردار هستند که تمامی این فاکتورها در پلاسما موجود می‌باشد[۱۰].

گرما به عنوان عاملی مؤثر جهت از بین بردن باکتری‌ها و ویروس‌ها می باشد. گرما با نابودی سیستم‌های متابولیکی سلول سبب مرگ ارگانیسم زنده می‌شود[۱۱]. یکی دیگر از روش‌های مؤثر جهت میکروب زدایی استفاده از پرتوهای فرابنفش می‌باشد. برای مؤثر واقع شدن این نوع از پرتوهای فرابنفش نیاز به طول موج‌هایی در محدوده ۲۲۰ تا ۲۸۰ نانومتر و توانی برابر با چندین مگاژول بر سانتی متر مربع نیاز است. تابش اشعه ماوراء بنفش نقش مهمی در استریلیزاسیون فشار پایین ایفا می‌کند، اما در پلاسما اتمسفری کمتر اهمیت دارد[۱۲-۱۳].

تحقیقات نشان داده است که گونه‌های واکنشی در برهمکنش‌های سطحی پلاسما نقش مهمی ایفا می‌کنند. بنابراین تخلیه‌های الکتریکی حاوی گونه‌های واکنش پذیری مانند اکسیژن مولکولی منفرد$O_2$ ، ازون $O_3$، ArI، اکسیژن اتمی OI، اکسیژن فعال (ROS)، هیدروکسیل OH و ترکیبات ناکس$NO_X$ دارای اثر ضدعفونی کنندگی قوی هستند[۱۰].

طبق یافته های موجود شارژ الکتریکی غشای سلولی روی سلول تأثیر می گذارد. مندیس پیشنهاد کرد که ذرات باردار ممکن است نقش مهمی در پارگی غشای بیرونی سلول های باکتریایی داشته باشند. الکترون ها با اتصال به غشای سلولی باعث افزایش نفوذ پذیری غشا و در نهایت منجر به تخریب سلول می شود. برای تأیید این فرضیه‌ها، تحقیقات وسیعی لازم است [۱۴].

تحقیقات در حوزه استریلیزاسیون توسط پلاسما، افق‌های جدیدی برای مواجهه با عفونت‌های باکتریایی و ویروسی ایجاد کرده است. اگرچه هدف از تحقیقات در حوزه ضدعفونی توسط پلاسما با تحقیقات در حوزه پزشکی بسیار متفاوت می‌باشد. پلاسما مورد استفاده در تحقیقات استریلیزاسیون به گونه‌ای طراحی شده است تا بیشترین نابودی سلولهای باکتری را رقم بزند. علاوه بر این، استریلیزاسیون را می توان تحت شرایط فشار پایین انجام داد در حالی که هنگام مواجهه با بافت زنده تنها می تواند در فشار اتمسفر فرایند باکتری زدایی را انجام داد. هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر پلاسما سرد به روش گلایدینگ آرک بر نابودی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد که تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه تجربی است که در آن تاثیر پلاسمای سرد مبتنی بر سه گاز هلیوم، آرگون و هوای فشرده را بر دو نوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا مورد ارزیابی قرار می دهد. در این تحقیق از سیستم تولید پلاسما به روش گلایدینگ آرک ساخته شده توسط شرکت ساتیا استفاده می‌شود (شکل 1a). این نوع از پلاسما یکی از پرکاربردترین تخلیه های فشار اتمسفری است. این سیستم به دلیل وجود دو ناحیه حرارتی و غیرحرارتی بازدهی بالایی در پردازش مواد گوناگون دارد. در اکثر موارد، این ناحیه فعال پلاسمایی در فضای بین دو الکترود چاقویی شکل ایجاد می‌شود (شکل 1b). چگالی الکترونی بالای این سیستم در دمای پایین باعث شده تا پردازش مواد مختلف که در معرض پلاسمای گلایدینگ آرک قرار می گیرند، بدون تخریب یا تغییر در سطح مواد و بسیار قابل توجه باشد. در تحقیق حاضر از ناحیه غیر حرارتی پلاسما استفاده گردیده است.

از ویژگی ها و مزایای این سیستم می توان به استفاده از هر نوع گازی به عنوان منبع تولیدی پلاسما، توانایی کارکرد در فشار اتمسفر و پردازش انواع سطوح مختلف پلیمری اشاره کرد. مشخصات تکنیکی این منبع تولید پلاسما به صورت مختصر در جدول ۱ آورده شده است.

**جدول ۱:** مشخصات تکنیکی دستگاه

| | |
|---|---|
| توان دستگاه | ۱۲ وات |
| ولتاژ ورودی | ۲۲۰ ولت |
| ولتاژ خروجی | تا ٦۰۰۰ ولت |
| فرکانس | تا ۱۰ کیلو هرتز |
| عمق نفوذ پلاسما | ۳۰۰ میکرون تا ۱ میلی متر قابلیت تنظیم |

### کشت باکتری و ارزیابی اثر پلاسمای سرد

هدف این تحقیق تعیین تأثیر پلاسما تولید شده توسط این دستگاه در نابودی دونوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا است؛ بنابراین نیاز به محیط کاشت LB جامد و مایع می‌باشد. جهت کاشت، ابتدا محیط کشت LB را فراهم می‌کنیم. در این مطالعه برای تولید ۰/۵ لیتر محیط کشت LB مقدار ۵ گرم کلرید سدیم، ۵ گرم باکتوتریپتون، ۰/۲۵ گرم مخمر را با آب مقطر به حجم نیم لیتر می‌رسانیم. سپس محیط کشت باکتری‌ها را در لوله فالکون هایی که قبلاً کاملاً استریل شده ریخته و در دمایی در حدود ۱۱۰ تا ۱۲۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۳۵ دقیقه در فشار ۱/۵ اتمسفر اتوکلاو می‌شود.

در ادامه برای تولید محیط کشت LB جامد، مقدار ۲۰ گرم آگار به ازای یک لیتر از LB به محیط اضافه گردید و بعد از اتوکلاو در ظرف پتری استریل شده ریخته شد. سپس به مدت ۱۲ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد درون انکوباتور قرار گرفت تا فرایند رشد باکتری‌ها اتفاق افتد. سپس نمونه‌های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا تهیه گردید. به وسیله یک فیلدو پلاتین حلقوی (Loop) یک لوپ از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به ۱۰ میلی لیتر محیط کشت LB مایع اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای مدت زمان ۱۲ساعت در انکوباتور قرار داده شد. فیلدو پلاتین حلقوی استفاده شده در این تحقیق وسیله‌ای است که از یک میله به طول ٤ سانتی متر ساخته شده است و دارای سر و دسته می‌باشد.

بعد از این بازهٔ زمانی، یک میلی لیتر از محیط رشد یافته در ۱۰ میلی لیتر محیط کشت تازه مجدداً تلقیح گردید. سپس در دستگاه انکوباتور قرار داده شد تا به کمک آن باکتریها به فاز لگاریتمی رشد وارد شوند.

در مرحله بعد جهت ضدعفونی کردن محیط کشت مـایع LB ، ۵ میلـی لیتـر سوسپانـسیون بـاکتری استافیلوکوکوس اورئـوس در ظـرف شیشه ای استریل با قطر ۷۰ میلی متر اضـافه شـد. همچنـین ۱۰۰ میکرولیتر از باکتری کشت داده شده استافیلوکوکوس اورئـوس و سودوموناس آئروژینوزا به طور جداگانه در محـیط کشـت جامـد پخش شدند.

در انتها باکتری‌های کشت شده پس از شکل گیـری و رشـد در محیط‌های کشت مایع و جامد، مورد تابش پلاسـما سـرد اتمسـفری قرار گرفتند. لازم به ذکر است که کلیهٔ مراحل کشت و رقیق سـازی در شرایط کاملاً استاندارد، در آزمایشگاه جامع دانشگاه تهران انجـام پذیرفت. همچنین فاصلهٔ تورچ پلاسما تا ظروف پتری ۳۰ میلـی‌متـر در نظر گرفته شد (ناحیه سرد پلاسما) و در بازه‌های زمانی ۱۰، ۱۵، ۳۰، ٤٥، ٦٠، ۱۸۰ و ۳۰۰ ثانیه نمونه‌های باکتریـایی را مـورد تـابش قرار داد. پس از تابش پلاسما مجدداً واحد کلونی‌های شـکل گرفتـه شده (CFU) جهت بررسی بازدهی پلاسما سرد در نابودی باکتری‌ها شمرده شدند. در این مطالعه جهت ارزیابی داده ها و رسم نمودار از نرم افزار اکسل و سیگماپلات استفاده گردید.

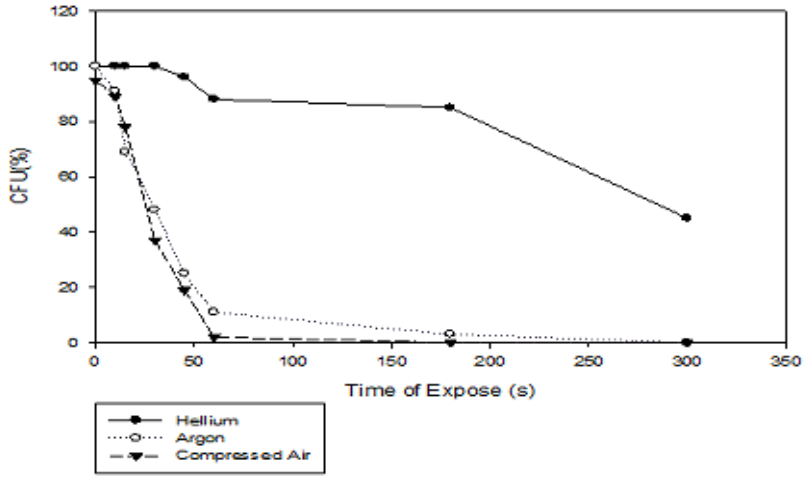
## یافته‌ها

پس از انجام آزمایش های صورت گرفته شده، نتایج بر اسـاس اصول و استاندارد های لازم در انجام پروژه های پژوهشی استخراج گردید. نتایج حاصل از این تحقیق در ۵ نمودار آورده شده در ادامه توضیح و مورد بحث قرار داده شده است.

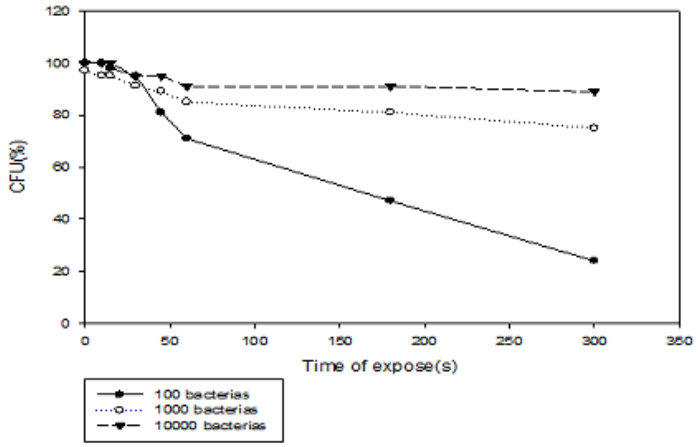
نمودار ۱ تأثیر تابش پلاسما سـرد بـر بـاکتری اسـتافیلوکوکوس اورئوس را نشان می‌دهد. در این نمودار نتیجه شـمارش CFU پـس از تابش پلاسما به صورت تابعی از زمان نشان داده شده است.

در نمودار ۲ تأثیر پلاسما گلایـدینگ آرک تولیـد شـده بـا گـاز هلیوم بر نابودسازی باکتری اسـتافیلوکوکوس اورئـوس کـه در سـه غلظت متفاوت رشـد داده شـده، نمـایش داده شـده اسـت. در ایـن آزمایش سه نوع غلظت متفاوت از باکتری‌ها استفاده شد و حتی بعد از ۵ دقیقه تابش پلاسما، مقدار قابل توجهی از کلونی‌های باکتریـایی در ظـرف بـاقی مانـد. نمـودار ۳ تـأثیر پلاسـمای گلایـدینگ آرک حاصل از گاز آرگون را بر سه نوع غلظـت $۱۰^{۲}$، $۱۰^{۳}$ و $۱۰^{٤}$ نمـایش داده شده است. نمودار ٤ تأثیر پلاسما سرد حاصـل شـده از هـوای فشرده را بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت های متفاوت نمایش می‌دهد.

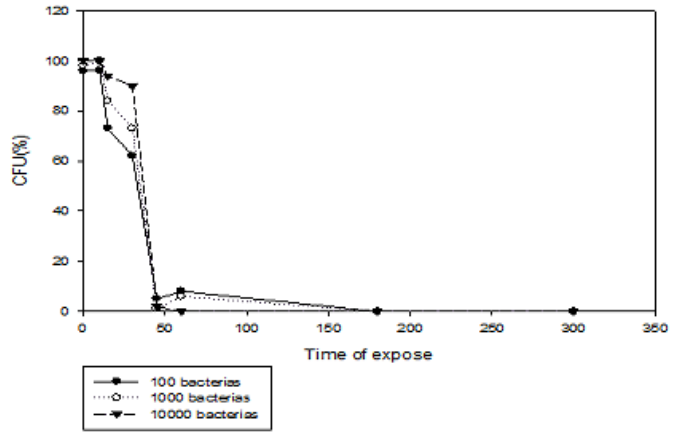
در انتهای این تحقیق تأثیر پلاسـمای سـرد حاصـل از گازهـای آرگـون، هلیـوم و هـوای فشـرده بـر نابودسـازی دو نـوع بـاکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا بررسی گردیـد. در نمودار ۵ نتایج این بررسی در زمـان‌هـای ۱، ۳ و ۵ دقیقـه نشـان داده شده است.



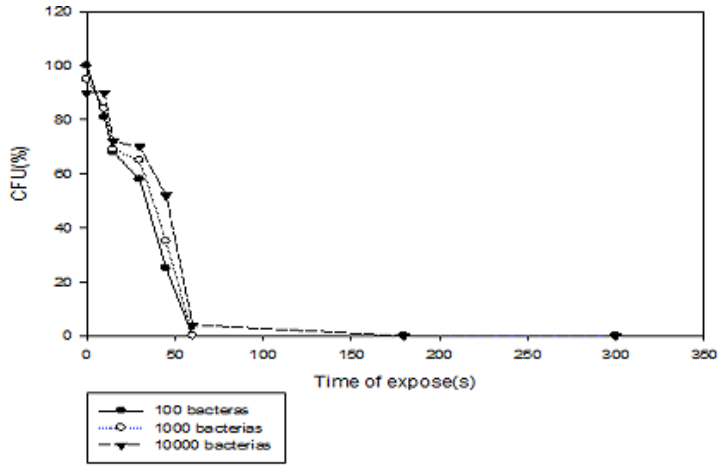

**نمودار ۱:** میزان نابودسازی کلونی های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (CFU) با تابش پلاسما بـا گازهـای آرگـون، هلیـوم و هـوای فشـرده در بازه‌های زمانی مشخص



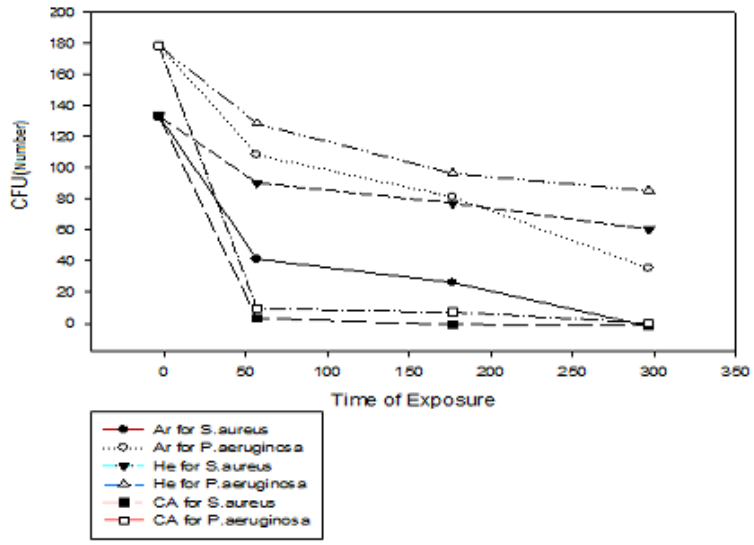

**نمودار۲:** میزان نابودسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (CFU) در غلظت های متفاوت توسط تابش پلاسما سرد هلیوم در بازه هـای زمـانی مختلف



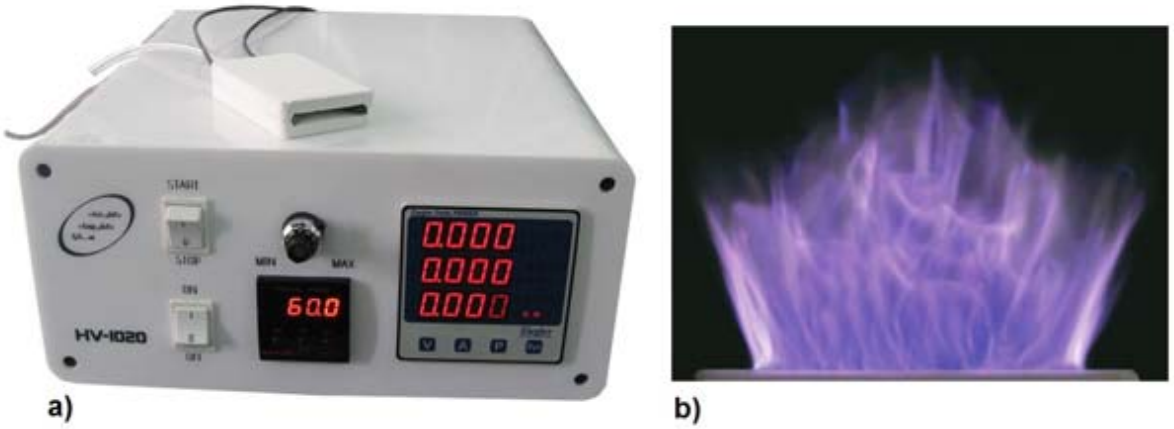

**نمودار۳ :** میزان نابودسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (CFU) در غلظت های متفاوت توسط تابش پلاسما سرد آرگون در بازه های زمانی مختلف




**نمودار٤:** میزان نابودسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (CFU) در غلظت های متفاوت توسط تابش پلاسما سرد هوای فشرده در بازه هـای زمانی مختلف




**نمودار۵:** مقایسه تاثیر پلاسما سرد مبتنی بر سه نوع گاز آرگون، هلیوم و هوای فشرده در بازه های زمانی ۱، ۳ و ۵ دقیقه بر روی نابود سازی کلونی های باکتریایی




**تصویر۱:** ( a)نمایی از دستگاه تولید پلاسما گلایدینگ آرک، (b) شعله پلاسما تابش شده از تورچ دستگاه

## بحث

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود استفاده از پلاسمای سرد سبب کاهش چشمگیر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می‌شود. از بین گازهای استفاده شده هوای فشرده شده تأثیر بیشتری را به نمایش می‌گذارد و در مقابل گاز هلیوم کمترین میزان آسیب به این نوع از باکتری را داشته است. آرگون نیز به عنوان دومین گاز موثر در نابود سازی این نوع باکتری شناخته شد. پس از یک دقیقه تابش پلاسمای آرگون، کاهش قابل توجهی از کلونی‌ها مشاهده می‌شود. در این تحقیق پلاسمای هوای فشرده شده بهترین نتیجه را در نابودی کلونی‌ها به نمایش می‌گذارد. تقریباً پس از ۱ دقیقه تابش پلاسمای هوای فشرده هیچ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در ظرف وجود نخواهد داشت. طبق بررسی های انجام شده مطالعه‌ای که به بررسی مقایسه ای تاثیر سه گاز آرگون، هلیوم و هوای فشرده پرداخته باشد، یافت نگردید.

در نمودار ۲ می‌توان مشاهده نمود پلاسمای سرد مبتنی بر گاز هلیوم، موجب کاهش غلظت باکتری می شود ولی نسبت به سایر گازها تأثیر زیادی بر باکتری‌ها نداشته و نمی‌توان از آن به عنوان گزینه‌ای مطلوب یاد کرد. Alkawareek و همکاران نیز در مطالعه‌ای

مشابه کاهش غلظت باکتری در اثر تابش پلاسمای سرد مبتنی بر گاز هلیوم را گزارش کردند[۱۵]. در پژوهشی کـه Ramona F و همکـاران دربـاره تـاثیر پلاسـمای سـرد مبتنـی بـر گـاز هلیـوم بـر بـاکتری استافیلوکوک اورئوس انجام دادند نتایج بیانگر ۷۳ درصد ضدعفونی باکتری در مـدت ۱۰۰ ثانیـه بـود. در مطالعـه حاضـر مقـدار مشـابه ضدعفونی باکتری با غلظت ۱۰۰ باکتری در مـدت زمـان ۲۸۰ ثانیـه ایجاد گردید. گرچه تاثیر گاز هلیوم بر نابودسازی باکتری نسبت بـه سایر گازها کمتر است ولی ضدعفونی به این روش نسبت بـه سـایر روش های ضدعفونی از قبیـل اسـتفاده از مـواد شـیمیایی، گرمـای خشک و درجه حرارت بالا در زمان کمتر و مطلوب تر می باشد[۱۶].

همانطور که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود پلاسما مبتنی بـر گـاز آرگون تأثیر به مراتب بهتری از گاز هلیوم به نمایش مـی‌گـذارد بـه گونه‌ای که بعد از تنها ٤٥ ثانیه از تابش پلاسـما میـزان کلـونی‌هـای سلولی کاهش چشمگیری می‌کنند. افزایش زمان تابش پلاسـما تـا ۳ دقیقه امکان ضدعفونی در حدود ۱۰۰ درصد را مهیا مـی‌کنـد. طبـق یافته های پژوهش مرتضوی و همکاران گاز آرگون نسـبت بـه گـاز هلیوم علاوه بر صرفه اقتصـادی و فقـدان سـمیت باقیمانـده، زمـان ضدعفونی را ۳۳ درصد کاهش می دهـد. نتـایج مطالعـه حاضـر بـا پژوهش مذکور همخوانی دارد[۱۷].

نمودار ٤ نشان می‌دهد که همانند گاز آرگون تأثیر هوای فشرده بر نابودی بـاکتری اسـتافیلوکوکوس اورئـوس چشـمگیر اسـت بـه گونه‌ای که پس از ۱ دقیقه کاهش این نوع بـاکتری بـه مقـدار قابـل توجهی (حدود ۹۷ درصد) می‌رسـد. ایـن یافتـه بـا نتـایج مطالعـه Fuxiang و همکاران در خصوص تـاثیر بـه سـزای پلاسـمای سـرد مبتنی بر هوا بر ضدعفونی باکتری همخوانی داشت[۱۲].

مطابق با یافته های پژوهش حاضر در نمودار ۵ نتایج نشان مـی دهد که باکتری‌های گرم منفی سـودوموناس آئروژینـوزا نسـبت بـه نسبت به باکتری‌های گرم مثبـت اسـتافیلوکوکوس اورئـوس در اثـر پلاسمای مبتنی بر هوای فشرده و هلیوم حساس‌تر می‌باشند و زودتر از بین مـی‌رونـد. در پـژوهش M Laroussi و همکـاران کـه تـاثیر پلاسمای سرد بر دو باکتری گرم منفـی اشریشـیاکلی و گـرم مثبـت باسیلوس ساب تیلیس انجام شد؛ نتایج نشـان داد کـه بـاکتری گـرم منفی به شدت تحت تاثیر پلاسما قرار گرفته و در اثر تخریـب غشـا و آزاد شدن سیتوپلاسم به بیرون مورفولوژی باکتری تغییر کرده بود در حالی که باکتری گرم مثبت تنها با پارگی غشـای بیرونـی همـراه بوده و تغییر شکل نداشته است[۱۸]. نتایج ما بـا یافتـه هـای پـژوهش مذکور همخوانی دارد.

روش‌ها و ابزارهای متفاوتی در مقالات مورد استفاده قرار گرفته است تا تأثیر پلاسما بر باکتری‌های متفـاوت را مـورد بررسـی قـرار دهند. محصولات ثانویه تولید شده در هنگـام تـابش پلاسـما ماننـد ازون، پرتو فـرابنفش، OH، $H_2O_2$ و NOx عوامـل مـؤثر در آسـیب رساندن بـه غشـا سـلولی مـی‌باشـد. ظـاهراً غشـا خـارجی ضـخیم باکتری‌های گرم منفی (lipopolysaccharide) محافظ مناسب‌تری در برابـر پلاسـما نسـبت بـه غشـا نـازک بـاکتری‌هـای گـرم مثبـت (peptidoglycan) است. تحت تابش پلاسما با دوز بالا هر دو نـوع باکتری مورد آسیب واقع مـی‌شـوند امـا بهتـرین نتـایج در حضـور پلاسمای آرگون و هوای فشرده حاصل می‌شود در حالی که هلیـوم تأثیر ناچیزی بر باکتری‌ها دارد[۷،٦].

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه تأثیر پلاسمای هلیوم، آرگون و هوای فشـرده بـر نابودی دو نوع باکتری گرم مثبـت و منفـی بررسـی شـد. پلاسـمای هلیوم تأثیر بالایی را در ضدعفونی و ازبین بردن باکتری‌هـا از خـود نشان نداد و حتی پس از ۵ دقیقه تابش پلاسما مقدار قابـل تـوجهی از کلونی‌های باکتریایی در ظرف کشت مشاهده مـی‌شـد. در مقابـل نتایج حاصل از پلاسمای آرگون و هوای فشرده بسـیار قابـل قبـول بود. نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می‌کند، ترکیب و ضـخامت غشاء سلولی خـارجی بـاکتری نقـش مهمـی را در پروسـه نـابودی باکتری بازی می‌کند.

## References


1. Modic, Martina, et al. "Cold atmospheric pressure plasma elimination of clinically important single-and mixed-species biofilms." *International journal of antimicrobial agents* 49.3 (2017): 375-378.
2. Nishime, T. M. C., et al. "Non-thermal atmospheric pressure plasma jet applied to inactivation of different microorganisms." *Surface and Coatings Technology* 312 (2017): 19-24.

3. Alkawareek, Mahmoud Y., et al. "Application of atmospheric pressure nonthermal plasma for the in vitro eradication of bacterial biofilms." *Pathogens and Disease* 65.2 (2012): 381-384. Heaselgrave, Wayne, et al. "Inactivation of Acanthamoeba spp. and other ocular pathogens by application of cold atmospheric gas plasma." *Applied and environmental microbiology* 82.10 (2016): 3143-3148.

4. Han, Lu, et al. "Mechanisms of inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma differ for Escherichia coli and Staphylococcus aureus." *Applied and environmental microbiology* 82.2 (2016): 450-458.

5. Van Gils, C. A. J., et al. "Mechanisms of bacterial inactivation in the liquid phase induced by a remote RF cold atmospheric pressure plasma jet." *Journal of Physics D: Applied Physics* 46.17 (2013): 175203.

6. Lee, K., Paek, K. H., Ju, W. T., & Lee, Y. (2006). Sterilization of bacteria, yeast, and bacterial endospores by atmospheric-pressure cold plasma using helium and oxygen. *The Journal of Microbiology*, *44*(3), 269-275.

7. Yu, Q. S., et al. "Sterilization effects of atmospheric cold plasma brush." *Applied physics* letters 88.1 (2006): 013903.

8. Laroussi, Mounir. "Low temperature plasma-based sterilization: overview and state-of-the-art." Plasma processes and polymers 2.5 (2005): 391-400.

9. Cheng, Cheng, et al. "Development of a new atmospheric pressure cold plasma jet generator and application in sterilization." Chinese Physics 15.7 (2006): 1544.

10. Grill, Alfred. Cold plasma in materials fabrication. Vol. 151. IEEE Press, New York, 1994.

11. Muranyi P, Wunderlich J, Heise M. Influence of relative gas humidity on the inactivation efficiency of a low temperature gas plasma. J Appl Microbiol 2008;104:1659–66.

12. Liu, F., et al., Inactivation of Bacteria in an Aqueous Environment by a Direct Current, Cold Atmospheric Pressure Air Plasma Microjet. Plasma Processes and Polymers, 2010. 7(3-4): p. 231-236.

13. Graves, David B. "Reactive species from cold atmospheric plasma: implications for cancer therapy." Plasma Processes and Polymers 11.12 (2014): 1120-1127.

14. Han, Lu, et al. "Mechanisms of inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma differ for Escherichia coli and Staphylococcus aureus." Applied and environmental microbiology 82.2 (2016): 450-458.

15. Alkawareek MY, Algwari QT, Laverty G., Gorman GP, Graham WG, O'Connell D, et al. Eradication of Pseudomonas aeruginosa biofilms by atmospheric pressure non-thermal plasma. PLoS ONE. 2012;7:e44289.

16. Ramona F, Antoniea P, Iuliana M, Andrei N, Dorina C, Gheorghe P. Bacteria response to non-thermal physical factors: A study on Staphylococcus aureus. Afr J Biotechnol. 2012;11(18):4234-40.

17. Mortazavi, S.M., A. Hosseinzadeh Colagar, and F. Sohbatzadeh, The Efficiency of the Cold Argon-oxygen Plasma jet to reduce Escherichia coli and Streptococcus pyogenes from solid and liquid ambient. Iranian Journal of Medical Microbiology 2016. 10(3): p. 19-30.

18. Laroussi, M., D. Mendis, and M. Rosenberg, Plasma interaction with microbes. New Journal of Physics 2003. 5(1): p. 41.

AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences

*Alborz University of Medical Sciences Journal, January 2021, Vol. 10, No. 1: 60-68* *Original Article*

**Amirhossein Sanaat[1, 2*], Shirin Riahi[3]**

[1] *Faculty of Nuclear Engineering and Physics, Amir Kabir University of Technology, Tehran, Iran*
*2 School of Medicine, University Hospital of Geneva, University of Geneva*
[3] *Non-Communicable Diseases Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran*

# Influence of Gliding Arc Cold Plasma Based on Argon, Helium and Compact Air on Bactria Around the Wound: Experimental Investigation

Received: 4 Apr. 2019; Accepted: 16 Jul. 2020

## Abstract

**Background:** Today, the use of cold plasma and its applications have taken into consideration. The plasma is a mixture of active oxygen and negative ions. This compound has a practical effect on the elimination of all types of bacteria and viruses. The cold plasma feature is essential and very useful in disinfecting processes. In this investigation, we plan to study the effect of gliding arc plasma on the destruction of two type of bacteria called S.aureus and P. aeruginosa which funded in the around the injury.

**Methods**: Plasma was irradiated to culturing bacteria environment over the different period. After applying the plasma, the Petri dishes were incubated at 37°C for 12 hours to grow the bacteria in the incubator. On the following day, colony formation was counted, then gliding arc plasma was induced at the atmospheric pressure to the bacteria that was implanted. Plasma effects were evaluated for the destruction of bacteria. Three types of gas were used for the creation of the plasma.

**Results**: Radiation of a high dose of plasma, caused significant bacterial destruction and decreased bacterial colonies. After about 1 minute, 99.9% of the S.aureus bacteria were destroyed. The best results are obtained in the presence of argon plasma and compressed air such that after 1 minute of plasma irradiation and compressed air, 90% of S.Aureus bacteria were destroyed at a concentration of 102 bacteria, while helium had little effect on bacteria.

**Conclusion**: The study also shows that gram-positive bacteria (S.Aureus) are more sensitive to plasma than P. gonorrhea (P. aeruginosa) and disappear faster.

**Key words**: Plasma gases, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Sterilization

***Corresponding Author:**
Faculty of Nuclear Engineering and Physics, Amir Kabir University of Technology, Tehran, Iran

Tel: 09353759816
E-mail: amir.sanaat@yahoo.com