

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

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۱/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۴/۲۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه استفاده از پلاسما 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 جراحی یافت می‌شود؛ مورد پژوهش قرار دهیم.

**مواد و روش‌ها:** این پژوهش یک مطالعه تجربی است که در آن تأثیر پلاسما 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، ۴۵، ۶۰، ۱۸۰ و ۳۰۰ ثانیه مورد ارزیابی قرار می‌دهد. 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 پلاسما هوای فشرده ۹۹/۹ درصد از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نابود گردید. بهترین نتایج در حضور پلاسما 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

امیرحسین صنعت <sup>۱\*</sup>، شیرین ریاحی <sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشکده فیزیک و مهندسی هسته‌ای

دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشکده پزشکی، بیمارستان دانشگاهی

زنو، دانشگاه زنو

<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات بیماری‌های غیر واگیر،

دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

نویسنده مسئول:

دانشکده فیزیک و مهندسی هسته‌ای

دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

۰۹۳۵۳۷۵۹۸۱۶

E-mail: amir.sanaat@yahoo.com

## مقدمه

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 می‌افتد که سبب ضد عفونی سطح مورد نظر می‌شود.<sup>۹</sup>

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 پاتوژن‌ها 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.<sup>۱۰</sup>

گرما به عنوان عاملی مؤثر جهت از بین بردن باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌باشد. گرما با نابودی سیستم‌های متابولیسی سلول سبب مرگ ارگانیسم زنده می‌شود.<sup>۱۱</sup> 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.<sup>۱۲-۱۳</sup>

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<sub>2</sub>، ازون O<sub>3</sub>، ArI، اکسیژن اتمی OI، اکسیژن فعال (ROS)، هیدروکسیل OH و ترکیبات ناکس NO<sub>x</sub> دارای اثر ضد عفونی کنندگی قوی هستند.<sup>۱۴</sup>

طبق یافته‌های موجود شارژ الکتریکی غشای سلولی روی سلول تأثیر می‌گذارد. مندیس پیشنهاد کرد که ذرات باردار ممکن است نقش مهمی در پارگی غشای بیرونی سلول‌های باکتریایی داشته باشند. الکترون‌ها با اتصال به غشای سلولی باعث افزایش نفوذ پذیری غشا و در نهایت منجر به تخریب سلول می‌شود. برای تأیید این فرضیه‌ها، تحقیقات وسیعی لازم است.<sup>۱۴</sup>

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

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 پلاسما اتمسفری مورد استفاده قرار می‌گیرد.<sup>۴</sup> در حال حاضر پلاسما اتمسفری به دلیل سهولت در تولید و به‌کارگیری و همچنین هزینه پایین مورد توجه بسیاری قرار گرفته است.<sup>۵</sup>

پلاسما سرد اتمسفری به عنوان پلاسما 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.<sup>۶-۸</sup>

پلاسما 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 می‌باشد. در این روش یک منبع AC ولتاژ مورد نیاز برای تخلیه الکتریکی در راستای شارش گاز مورد

جدول ۱: مشخصات تکنیکی دستگاه

توان دستگاه	۱۲ وات
ولتاژ ورودی	۲۲۰ ولت
ولتاژ خروجی	تا ۶۰۰۰ ولت
فرکانس	تا ۱۰ کیلو هرتز
عمق نفوذ پلاسما	۳۰۰ میکرون تا ۱ میلی متر قابلیت تنظیم

### کشت باکتری و ارزیابی اثر پلاسما سرد

هدف این تحقیق تعیین تأثیر پلاسما تولید شده توسط این دستگاه در نابودی دئوس 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 ۱۲ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. فیلدو پلاتین حلقوی استفاده شده در این تحقیق وسیله‌ای است که از یک میله به طول ۴ سانتی متر ساخته شده است و دارای سر و دسته می‌باشد.

بعد از این بازه 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.

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 می‌توان تحت شرایط فشار پایین انجام داد در حالی که هنگام مواجهه با بافت زنده تنها می‌تواند 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 تأثیر پلاسما سرد مبتنی بر سه گاز هلیوم، آرگون و هوای فشرده را بر دو نوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا مورد ارزیابی قرار می‌دهد. 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 تخلیه‌های 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 پلاسما در فضای بین دو الکتروود چاقویی شکل ایجاد می‌شود (شکل 1b). چگالی الکترونی بالای این سیستم در دمای پایین باعث شده تا پردازش مواد مختلف که در معرض پلاسما گلایدینگ آرک قرار می‌گیرند، بدون تخریب یا تغییر در سطح مواد و بسیار قابل توجه باشد. در تحقیق حاضر از ناحیه غیر حرارتی پلاسما استفاده گردیده است.

از ویژگی‌ها و مزایای این سیستم می‌توان 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.

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 سرد بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را نشان می‌دهد. در این نمودار نتیجه شمارش CFU پس از تابش پلاسما به صورت تابعی از زمان نشان داده شده است. در نمودار ۲ تأثیر پلاسما گلایدینگ آرک تولید شده با گاز هلیوم بر نابودسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس که در سه غلظت متفاوت رشد داده شده، نمایش داده شده است. در این آزمایش سه نوع غلظت متفاوت از باکتری‌ها استفاده شد و حتی بعد از ۵ دقیقه تابش پلاسما، مقدار قابل توجهی از کلونی‌های باکتریایی در ظرف باقی ماند. نمودار ۳ تأثیر پلاسما گلایدینگ آرک حاصل از گاز آرگون را بر سه نوع غلظت ۱، ۲، ۱۰<sup>۲</sup> و ۱۰<sup>۴</sup> نمایش داده شده است. نمودار ۴ تأثیر پلاسما سرد حاصل شده از هوای فشرده را بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت‌های متفاوت نمایش می‌دهد.

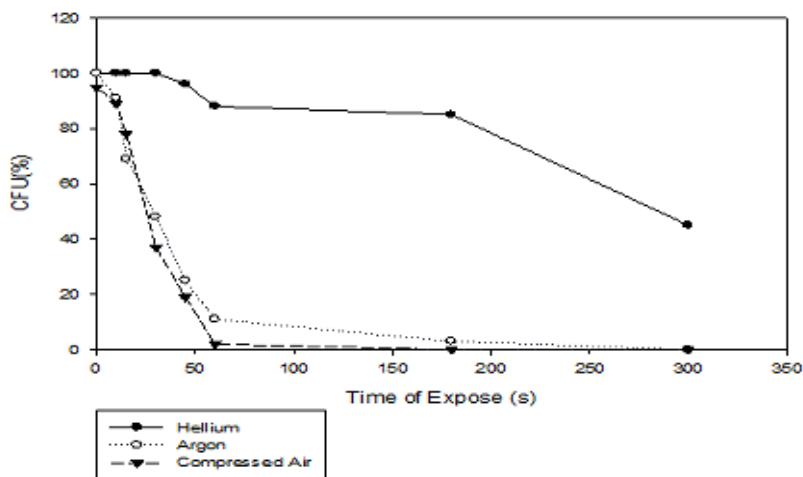
در انتهای این تحقیق تأثیر پلاسما سرد حاصل از گازهای آرگون، هلیوم و هوای فشرده بر نابودسازی دو نوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا بررسی گردید. در نمودار ۵ نتایج این بررسی در زمان‌های ۱، ۳ و ۵ دقیقه نشان داده شده است.

در مرحله بعد جهت ضد عفونی کردن محیط کشت مایع LB، ۵ میلی لیتر سوسپانسیون باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در ظرف شیشه‌ای استریل با قطر ۷۰ میلی متر اضافه شد. همچنین ۱۰۰ میکرولیتر از باکتری کشت داده شده استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به طور جداگانه در محیط کشت جامد پخش شدند.

در انتها باکتری‌های کشت شده پس از شکل گیری و رشد در محیط‌های کشت مایع و جامد، مورد تابش پلاسما سرد اتمسفری قرار گرفتند. لازم به ذکر است که کلیه مراحل کشت و رقیق سازی در شرایط کاملاً استاندارد، در آزمایشگاه جامع دانشگاه تهران انجام پذیرفت. همچنین فاصله تورچ پلاسما تا ظروف پتری ۳۰ میلی‌متر در نظر گرفته شد (ناحیه سرد پلاسما) و در بازه‌های زمانی ۱۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۱۸۰ و ۳۰۰ ثانیه نمونه‌های باکتریایی را مورد تابش قرار داد. پس از تابش پلاسما مجدداً واحد کلونی‌های شکل گرفته شده (CFU) جهت بررسی بازدهی پلاسما سرد در نابودی باکتری‌ها شمرده شدند. در این مطالعه جهت ارزیابی داده‌ها و رسم نمودار از نرم افزار اکسل و سیگماپلات استفاده گردید.

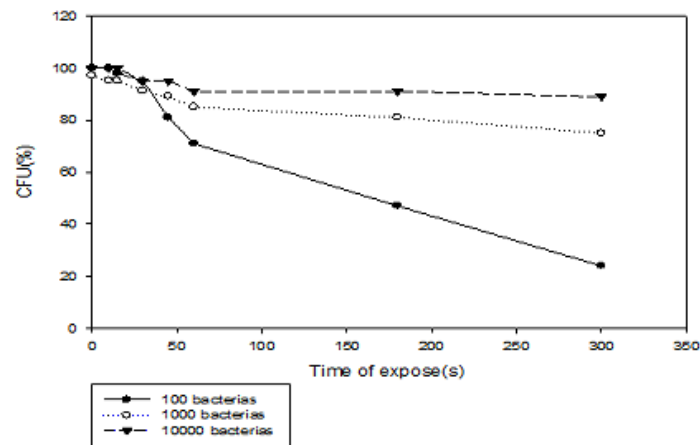
## یافته‌ها

پس از انجام آزمایش‌های صورت گرفته شده، نتایج بر اساس اصول و استاندارد‌های لازم در انجام پروژه‌های پژوهشی استخراج

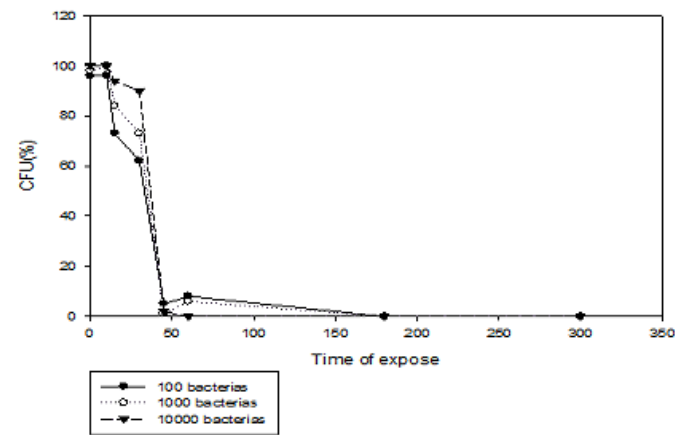


نمودار ۱: میزان نابودسازی کلونی‌های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (CFU) با تابش پلاسما با گازهای آرگون، هلیوم و هوای فشرده در بازه‌های زمانی مشخص

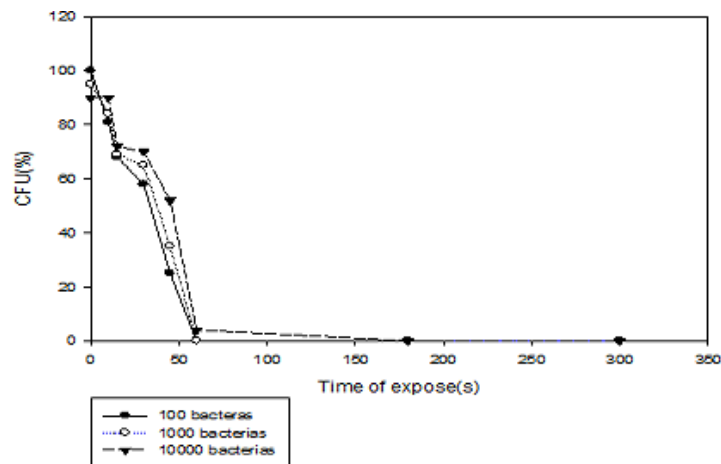
بررسی تأثیر پلاسما سرد به روش گلاپدینگ آرک بر پایه گازهای آرگون، هلیوم و هوای فشرده بر باکتری‌های ناحیه اطراف زخم در محیط آزمایشگاه



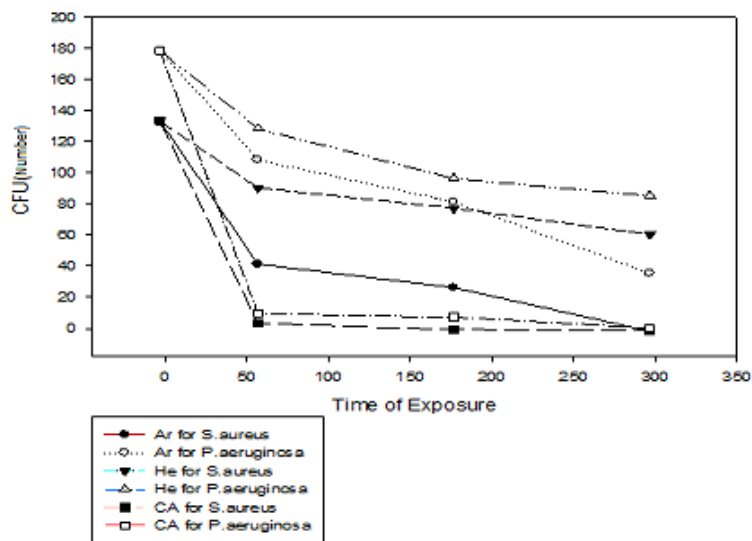
نمودار ۲: میزان نابودسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (CFU) در غلظت‌های متفاوت توسط تابش پلاسما سرد هلیوم در بازه‌های زمانی مختلف



نمودار ۳: میزان نابودسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (CFU) در غلظت‌های متفاوت توسط تابش پلاسما سرد آرگون در بازه‌های زمانی مختلف



نمودار ۴: میزان نابودسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (CFU) در غلظت‌های متفاوت توسط تابش پلاسما سرد هوای فشرده در بازه‌های زمانی مختلف



نمودار ۵: 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



تصویر ۱: (a) نمایشی از دستگاه تولید پلاسما گلایدینگ آرک، (b) شعله پلاسما تابش شده از تورچ دستگاه

در نابودی کلونی ها به نمایش می گذارد. تقریباً پس از ۱ دقیقه تابش پلاسما هوای فشرده هیچ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در ظرف وجود نخواهد داشت. طبق بررسی های انجام شده مطالعه ای که به بررسی مقایسه ای تاثیر سه گاز آرگون، هلیوم و هوای فشرده پرداخته باشد، یافت نگردید.

در نمودار ۲ می توان مشاهده نمود پلاسما سرد مبتنی بر گاز هلیوم، موجب کاهش غلظت باکتری می شود ولی نسبت به سایر گازها تأثیر زیادی بر باکتری ها نداشته و نمی توان از آن به عنوان گزینه ای مطلوب یاد کرد. Alkawareek و همکاران نیز در مطالعه ای

### بحث

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می شود استفاده از پلاسما سرد سبب کاهش چشمگیر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می شود. از بین گازهای استفاده شده هوای فشرده شده تأثیر بیشتری را به نمایش می گذارد 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 پلاسما آرگون، کاهش قابل توجهی از کلونی ها مشاهده می شود. در این تحقیق پلاسما هوای فشرده شده بهترین نتیجه را

پلاسمای سرد بر دو باکتری گرم منفی اشیریشیاکلی و گرم مثبت باسیلوس ساب تیلیس انجام شد؛ نتایج نشان داد که باکتری گرم منفی به شدت تحت تأثیر پلاسما قرار گرفته و در اثر تخریب غشا و آزاد شدن سیتوپلاسم به بیرون مورفولوژی باکتری تغییر کرده بود در حالی که باکتری گرم مثبت تنها با پارگی غشای بیرونی همراه بوده و تغییر شکل نداشته است<sup>۱۸</sup>. نتایج ما با یافته‌های پژوهش مذکور همخوانی دارد.

روش‌ها و ابزارهای متفاوتی در مقالات مورد استفاده قرار گرفته است تا تأثیر پلاسما بر باکتری‌های متفاوت را مورد بررسی قرار دهند. محصولات ثانویه تولید شده در هنگام تابش پلاسما مانند ازون، پرتو فرابنفش، OH، H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و NOx عوامل مؤثر در آسیب رساندن به غشا سلولی می‌باشد. ظاهراً غشا خارجی ضخیم باکتری‌های گرم منفی (lipopolysaccharide) محافظ مناسب‌تری در برابر پلاسما نسبت به غشا نازک باکتری‌های گرم مثبت (peptidoglycan) است. تحت تابش پلاسما با دوز بالا هر دو نوع باکتری مورد آسیب واقع می‌شوند اما بهترین نتایج در حضور پلاسمای آرگون و هوای فشرده حاصل می‌شود در حالی که هلیوم تأثیر ناچیزی بر باکتری‌ها دارد<sup>۱۶</sup>.

### نتیجه‌گیری

در این مطالعه تأثیر پلاسمای هلیوم، آرگون و هوای فشرده بر نابودی دو نوع باکتری گرم مثبت و منفی بررسی شد. پلاسمای هلیوم تأثیر بالایی را در ضدعفونی و از بین بردن باکتری‌ها از خود نشان نداد و حتی پس از ۵ دقیقه تابش پلاسما مقدار قابل توجهی از کلونی‌های باکتریایی در ظرف کشت مشاهده می‌شد. در مقابل نتایج حاصل از پلاسمای آرگون و هوای فشرده بسیار قابل قبول بود. نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می‌کند، ترکیب و ضخامت غشاء سلولی خارجی باکتری نقش مهمی را در پروسه نابودی باکتری بازی می‌کند.

مشابه کاهش غلظت باکتری در اثر تابش پلاسمای سرد مبتنی بر گاز هلیوم را گزارش کردند<sup>۱۵</sup>. در پژوهشی که Ramona F و همکاران درباره تأثیر پلاسمای سرد مبتنی بر گاز هلیوم بر باکتری استافیلوکوک اورئوس انجام دادند نتایج بیانگر ۷۳ درصد ضدعفونی باکتری در مدت ۱۰۰ ثانیه بود. در مطالعه حاضر مقدار مشابه ضدعفونی باکتری با غلظت ۱۰۰ باکتری در مدت زمان ۲۸۰ ثانیه ایجاد گردید. گرچه تأثیر گاز هلیوم بر نابودسازی باکتری نسبت به سایر گازها کمتر است ولی ضدعفونی به این روش نسبت به سایر روش‌های ضدعفونی از قبیل استفاده از مواد شیمیایی، گرمای خشک و درجه حرارت بالا در زمان کمتر و مطلوب تر می‌باشد<sup>۱۶</sup>.

همانطور که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود پلاسما مبتنی بر گاز آرگون تأثیر به مراتب بهتری از گاز هلیوم به نمایش می‌گذارد به گونه‌ای که بعد از تنها ۴۵ ثانیه از تابش پلاسما میزان کلونی‌های سلولی کاهش چشمگیری می‌کنند. افزایش زمان تابش پلاسما تا ۳ دقیقه امکان ضدعفونی در حدود ۱۰۰ درصد را مهیا می‌کند. طبق یافته‌های پژوهش مرتضوی و همکاران گاز آرگون نسبت به گاز هلیوم علاوه بر صرفه اقتصادی و فقدان سمیت باقیمانده، زمان ضدعفونی را ۳۳ درصد کاهش می‌دهد. نتایج مطالعه حاضر با پژوهش مذکور همخوانی دارد<sup>۱۷</sup>.

نمودار ۴ نشان می‌دهد که همانند گاز آرگون تأثیر هوای فشرده بر نابودی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس چشمگیر است به گونه‌ای که پس از ۱ دقیقه کاهش این نوع باکتری به مقدار قابل توجهی (حدود ۹۷ درصد) می‌رسد. این یافته با نتایج مطالعه Fuxiang و همکاران در خصوص تأثیر به سزای پلاسمای سرد مبتنی بر هوا بر ضدعفونی باکتری همخوانی داشت<sup>۱۲</sup>.

مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر در نمودار ۵ نتایج نشان می‌دهد که باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا نسبت به نسبت به باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس در اثر پلاسمای مبتنی بر هوای فشرده و هلیوم حساس تر می‌باشند و زودتر از بین می‌روند. در پژوهش M Laroussi و همکاران که تأثیر

### References

- 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.
- 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.



**Amirhossein Sanaat<sup>1,2\*</sup>, Shirin Riahi<sup>3</sup>**<sup>1</sup> Faculty of Nuclear Engineering and Physics, Amir Kabir University of Technology, Tehran, Iran<sup>2</sup> School of Medicine, University Hospital of Geneva, University of Geneva<sup>3</sup> 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 Bacteria 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. gonorrhoea (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