باکتری‌زدایی سطوح توسط پلاسمای سد دی‌الکتریک

مهدی شریفیان[۱]، .سعید عنایت الهی[۲]، الهه عطایی[۱]، .مصطفی صدری[۱]، پروانه دهقان[۱]

[۱]دانشکده فیزیک، دانشگاه یزد، یزد، ایران

[۲]گروه میکروبیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

چکیده – در این مقاله، از تخلیه سد دی الکتریک برای غیرفعال کردن دو گونه باکتری اشریشیا کُلی و استافیلوکوک اورئوس استفاده شده است. این باکتری ها در مدت زمان های مختلف تحت تأثیر پلاسما قرار داده شده است. نتایج حاصله از تأثیر پلاسما بر سطوح پوشیده شده با باکتری نشان می دهد که اعمال پلاسما به مدت ۱۶۰ ثانیه سبب از بین رفتن این دو باکتری شده است.

کلید واژه- پلاسمای سرد، تخلیه ی سد دی الکتریک، باکتری های اشریشیا کُلی و استافیلوکوک اورئوس

Inactivation of bacteria by dielectric barrier discharge plasma

Mahdi Sharifian[1] ,Saeed Enayatollahi , Elahe Ataei , Mostafa Sadri and Parvane Dehghan

[1] Departement of Physics, University of Yazd , Yazd, IRAN.

[2]Department of Microbiology, Since and Reaserch Branch, Islamic Azad University , Tehran, IRAN

Abstract- In this paper we used a dielectric barrier discharge plasma to inactivate Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteriaes. The samples were exposed to DBD plasma at different exposure time. The results show that bacteria CFUs are inactivated effectively after 120 seconds.

Keywords: Dielectric barrier discharge (DBD), Low-temperature Plasma, Escherichia coli bacteria, Staphylococcus aureus bacteria

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

۱- مقدمه

میکروب زدایی سطوح همواره در زمینه‌هایی چون پزشکی و صنایع غذایی از حساسیت برخوردار بوده است و تاکنون روش‌های بسیاری برای میکروب‌زدایی سطوح و ابزارها بکار گرفته شده است. از جمله این روش‌ها می‌توان به اتوکلاوکردن، استریل کننده‌های شیمیایی نظیر ETO ،اشعه گاما، استفاده از سیستم-های خلاء و... اشاره نمود [۱, ۲]. به طور کلی خصوصیاتی چون کوتاهی زمان استریل، پایین بودن دما، فراگیر بودن برای طیف وسیعی از اجسام، خطرناک نبودن روش برای افراد را می‌توان از ویژگی‌های مهم یک روش استریل مناسب دانست. در دهه‌ی اخیر پلاسمای سد دی الکتریک به واسطه‌ی ویژگی‌های منحصربه فرد خود به عنوان یک روش نوین استریلیزاسیون مطرح گردیده و مطالعات بسیاری بر روی آن انجام می‌گیرد [۳-۷]. این روش به دلیل غیرحرارتی بودن (پلاسمای سرد) در استریل سطوح، مواد حساس به حرارت و بافت‌های زنده کاربرد دارد [۸]. هم‌چنین گونه¬های فعال شیمیایی تولید شده توسط پلاسما طول عمر کوتاهی دارند و تابش گسیل شده مضر قابل توجهی توسط پلاسما وجود ندارد [۹]. از عوامل مؤثر در استریلیزاسیون با پلاسمای سرد می‌توان به پرتو فرابنفش، ذرات باردار، گونه‌های فعال شده و رادیکال‌های آزاد اشاره کرد [۹]. پلاسمای سد دی الکتریک یا پلاسمای سرد در فشار اتمسفری از رخ دادن تخلیه الکتریکی میان دو الکترود که حداقل یکی از آن‌ها توسط عایقی مانند سرامیک یا کوارتز پوشانده شده است ایجاد می‌شود. این تخلیه با اعمال ولتاژ بالای متناوب بین دو الکترود صورت گرفته و وجود یک لایه دی الکتریک از عبور جریان بالا میان دو الکترود جلوگیری می‌نماید [۱۰].

در این مقاله تاثیر پلاسمای سد دی الکتریک در از بین بردن اشریشیا کُلی [۱] و استافیلوکوک اورئوس [۲] در زمان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است.

۲- معرفی باکتری‌ها

اشریشیا کُلی یا بطور اختصار E.coli، نوعی باسیل گرم منفی از خانواده آنتروباکتریاسه است. بیشتر سویه‌های اشریشیاکلی، بی‌آزار هستند اما برخی از سروتیپ‌ها موجب مسمویت غذایی و اسهال می‌شوند. این سویه‌های بی‌آزار، بخشی از فلور عادی روده هستند. آن‌ها در تولید ویتامین K_2 نقش دارند و از استقرار باکتری‌های بیماری‌زا در روده جلوگیری می‌کنند. این باکتری، ۰/۱٪ فلور روده را به خود اختصاص داده‌است. این باکتری از طریق مسیر مدفوعی-دهانی [۳] از یک فرد به فرد دیگر منتقل می‌شود. شایع‌ترین عامل عفونت دستگاه ادراری است [۱۱].

استافیلوکوک اورئوس کوکسی گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که مهم‌ترین گونه در جنس (سرده [۴]) استافیلوکوک از نظر پزشکی محسوب می‌شود. این باکتری ممکن است به شکل فلور عادی پوست یا بینی وجود داشته باشد. استافیلوکوک اورئوس، یکی از موفق ترین باکتری‌های بیماریزاست. این باکتری به دلیل تولید رنگدانه طلایی کارتنوئیدی به نام استافیلوزانتین [۵]، کلنی‌های زرد رنگی را ایجاد می‌نماید. این پیگمان در بیماریزایی نقش دارد زیرا به عنوان ماده آنتی اکسیدان عمل کرده و موجب در امان ماندن باکتری در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود. رادیکال‌های آزاد اکسیژن توسط سیستم ایمنی (گلبول‌های سفید) میزبان برای کشتن باکتری‌ها تولید می‌شوند. استافیلوکوک اورئوس، گستره وسیعی از عفونت‌ها از عفونت‌های ساده پوستی (مانند جوشدانه، کورک، کفگیرک، گل مژه و آبسه) گرفته تا بیماری‌های تهدید کننده زندگی (مانند پنومونی، مننژیت، استئومیلیت، اندوکاردیت، سندرم شوک سمی و سپتی سمی) را ایجاد می‌نماید.

---

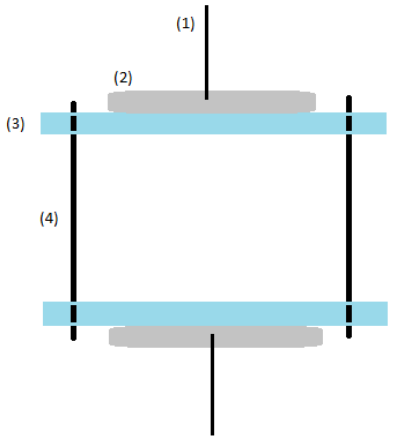
[۱] Escherichia coli
[۲] Staphylococcus aureus
[۳] oral- fecal
[۴] Genus
[۵] staphyloxanthin

استافیلوکوک اورئوس به عنوان یکی از ۵ عامل شایع ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی به ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی است. استافیلوکوک اورئوس با تولید انتروتوکسین، ایجاد مسمومیت غذایی می‌کند. باکتری ممکن است به شکل همزیست بر روی پوست وجود داشته باشد و از بینی یک سوم از مردم جدا شود. این باکتری به میزان کمتر ممکن است در گلو نیز وجود داشته باشد. وجود استافیلوکوک اورئوس در این شرایط به معنای عفونت نیست و نیازی هم به درمان در اینگونه موارد نمی‌باشد. استافیلوکوک اورئوس ممکن است بر روی سطوح خشک برای هفته‌ها تا ماه‌ها زنده بماند. برخی از فاژها (باکتریوفاژها[۶]) می‌توانند استافیلوکوک اورئوس را آلوده کنند و از این طریق موجب انتقال ژن تولید کننده توکسین پنتون- والنتین[۷] به آن شوند. از این رو، بیماریزایی سویه‌ها[۸] را افزایش خواهند داد. هنگامی‌که سد پوستی از بین برود، باکتری به بافت حمله می‌کند و بیماری‌هایی مانند کورک و کفگیرک را ایجاد می‌کند. استافیلوکوک اورئوس در کودکان، عفونت شدید به نام سندرم پوستی فلسی شونده استافیلوکوکی[۹] را ایجاد می‌کند. عفونت‌های استافیلوکوکی از طریق تماس با چرک زخم یا پوست با پوست انتقال پیدا می‌کنند. تماس با وسایل شخصی مانند حوله، ملحفه، لباس و وسایل ورزشی نیز در انتقال عفونت از فردی به فرد دیگر نقش دارند. عفونت‌های عمیق ممکن است شدید باشند مانند آرتریت سپتیک، اندوکاردیت و پنومونی [۱۲].

۳- روش آزمایش

جهت سنجش خاصیت ضد میکروبی پلاسما روش زیر اجرا شد. ابتدا دوگونه باکتری استافیلوکوک اورئوس و اشرشیاکلی را در محیط نوترینت‌براث در دمای ۳۷°Cدرجه و ۱۲۰ rpm به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس کدورت را در طول موج ۶۰۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. محیط کشت نوترینت‌آگار[۱۰] تهیه شد و باکتری‌ها در محیط‌های کشت به صورت چمنی کشت شدند.

شکل ۱ چیدمان تجربی مورد استفاده در این تحقیق برای تولید پلاسما سد دی‌الکتریک را نشان می‌دهد.



شکل۱: .چیدمان تجربی آزمایش؛ ۱-کابل high voltage (سیگنال ولتاژ اعمالی ۱۲ کیلو هرتز ولتاژ پالسی با طول پالس‌های نانو ثانیه با استفاده از منبع تغذیه dc) به منظور متصل شدن ورقه آلمینیومی به منبع تغذیه ۲-ورق آلومینیومی به ضخامت ۳ mm، ۳-شیشه به ضخامت ۴ mm به عنوان دی الکتریک ۴-میله قابل تنظیم به منظور تنظیم فاصله بین دو الکترود که از جنس تفلون می باشد.

پلیت‌ها را در زمان‌های ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۶۰، ۲۰۰ و ۲۴۰ ثانیه تحت تأثیر پلاسما در دمای۳۷° سانتی گراد، فشار یک اتمسفر (10^5 Pa) و هوای اتاق قرار داده شد و در شرایط تاریکی به انکوباتور منتقل شد.

۴- بحث و نتیجه‌گیری

بعد از ۲۴ ساعت کشت‌ها را با پلیت شاهد مقایسه کردیم مشاهده از این قرار بود که زمان پنجم خاصیت میکروب کشی داشته و از رشد میکروب‌ها جلوگیری نموده است.

---

[۶] bacteriophage
[۷] Panton-Valentine leukocidin
[۸] Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)
[۹] staphylococcal scalded skin syndrome
[۱۰] Nutrient agar

شکل ۲ و ۳ نمونه‌های مورد بررسی در این آزمایش را نشان می‌دهد که شکل‌های (الف) مربوط به نمونه کنترل و شکل‌های (ب) مربوط به زمان پنجم (۱۶۰ ثانیه) تحت تأثیر پلاسمای تخلیه سد دی‌الکتریک است.

(الف)	
(ب)	

شکل۲: دو نمونه از سطح پوشیده شده از باکتری اشرشیاکلی (الف) نمونه کنترل (ب) نمونه مربوط به زمان پنجم تحت تأثیر پلاسمای تخلیه سد دی‌الکتریک

(الف)	
(ب)	

شکل۳: دو نمونه از سطح پوشیده شده از باکتری استافیلوکوک اورئوس (الف) نمونه کنترل (ب) نمونه مربوط به زمان پنجم تحت تأثیر پلاسمای تخلیه سد دی‌الکتریک

همان‌طور که در تصاویر نیز دیده می‌شود در محل‌های اعمال پلاسما، باکتری‌ها از بین رفته‌اند و در این مکان‌ها رشد و تکثیری وجود ندارد و محل شفاف می‌باشد. در حالی‌که سایر نقاط توسط اجتماع باکتری‌ها پوشانده شده و لایه‌ای کدر بر روی سطح تشکیل شده است.

با استفاده از نرم افزار Image J مساحت ناحیه شفاف را اندازه‌گیری کردیم. درصد مساحت غیرفعال شده باکتری در زمان پنجم تحت تأثیر پلاسما برای باکتری اشرشیاکلی ۷۴/۹ ٪ و برای باکتری استافیلوکوک اورئوس ۶۴/۵ ٪ به دست آمد. با توجه به اینکه مقادیر اندازه‌گیری شده نزدیک به هم هستن اما واضح است که تأثیر پلاسما بر روی باکتری اشرشیاکلی در مقایسه با باکتری استافیلوکوک اورئوس بیشتر بوده است.

۵- نتیجه‌گیری

در این مقاله از روش تخلیه پلاسمای سد دی‌الکتریک در باکتری زدایی سطوح ناشی از دو گونه باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس استفاده گردید. نتایج نشان می‌دهد که پلاسمای تخلیه سطح دی‌الکتریک می‌تواند روش مناسب و کارآمدی باشد بدین صورت که این گونه باکتری‌ها تحت تأثیر آن غیرفعال شده و از بین می‌روند.

مراجع

۱. *Yue, M., et al., Chemical Mechanisms of Bacterial Inactivation Using Dielectric Barrier Discharge Plasma in Atmospheric Air. Plasma Science, IEEE Transactions on, 2008.* ***36****(4): p. 1615-1620.*

۲. *Cooper, M., et al., Decontamination of Surfaces From Extremophile Organisms Using Nonthermal Atmospheric-Pressure Plasmas. Plasma Science, IEEE Transactions on, 2009.* ***37****(6): p. 866-871.*

۳. *Laroussi, M., Low-Temperature Plasmas for Medicine? Plasma Science, IEEE Transactions on, 2009.* ***37****(6): p. 714-725.*

۴. *Moisan ,M., et al., Plasma sterilization. Methods and mechanisms. Pure and applied chemistry, 2002.* ***74****(3): p. 349-358.*

۵. *Ayan, H., et al., Application of nanosecond-pulsed dielectric barrier discharge for biomedical treatment of topographically non-uniform surfaces. Journal of Physics D: Applied Physics, 2009.* ***42****(12): p. 125202.*

۶. *Kuo, S.P., et al., Plasma effects on bacterial spores in a wet environment. New Journal of Physics, 2006.* ***8****(3): p. 41.*

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

۸. *Fridman, G., et al., Blood Coagulation and Living Tissue Sterilization by Floating-Electrode Dielectric Barrier Discharge in Air. Plasma Chemistry and Plasma Processing, 2006.* ***26****(4): p. 425* ۴۴۲.-

۹. *Lu, X., et al., The roles of the various plasma agents in the inactivation of bacteria. Journal of Applied Physics, 2008.* ***104****(5): p.- .*

۱۰. *Kogelschatz, U., Dielectric-barrier discharges: their history, discharge physics, and industrial applications. Plasma Chemistry and Plasma Processing, 2003.* ***23****(1): p. 1-46.*

11 *https://fa.wikipedia.org/wiki/اشرشیاکلی*

12 *https://fa.wikipedia.org/wiki/استافیلوکوک*

اصلاحات مورد نظر:

۱- بخش تجربی و به خصوص نتایج بسیار کلی و کیفی بیان شده است و کمتر جنبه کمی دارد که نیازمند بازنگری است.

۲- در صورت امکان در متن اشاره شود که چه درصدی از باکتری ها از کل حجم نمونه غیر فعال شده اند.

۳- بخش مقدمه مقاله و معرفی باکتری با اینکه جالب است اما بیشتر وزن مقاله را به خود اختصاص داده است و لازم است تعدیل شود.

۴- در بخش ۳، توصیف چیدمان تجربی برای تولید پلاسما، به شدت کوتاه و مبهم است. مواردی از قبیل نوع گاز و فشار گاز، حتما ذکر شده و شکل سیگنال ولتاژ (به قول نویسندگان high voltage) نیز حتما نشان داده شود.

۵- در شکل های ۲ و ۳، قسمت های سیاه شده حذف شوند و قسمت دایره ای که حاوی اطلاعات است، به صورت بزرگتر و واضح تر نشان داده شود.

۶- در بخش ۳ (روش آزمایش)، پاراگراف اول، نوشته شده "فشار 160 pm" با توجه به این که یکای فشار پاسکال است که با Pa نشان داده می شود، این موضوع توضیح داده شود.

۷- اصل لغات زیرنویس شود مثل اشریشیا کلی، سویه، سرده، فلور، نوترینتاگار، توکسین پنتون-والنتین، باکتریوفاژها

۸- در بخش۲ (معرفی باکتری ها)، پاراگراف اول، نوشته شده:" این باکتری، ۰/۱٪ فلور روده را ...." بهتر است نوشته شود: "این باکتری، یکهزارم فلور روده را ...".

توضیحات اصلاحیه:

۱- اصلاح شد.

۲- اصلاح شد.

۳- اصلاح شد.

۴- نوع گاز: هوای معمولی- فشار گاز: یک اتمسفر- شکل سیگنال ولتاژ: سیگنال ولتاژ اعمالی ۱۲ کیلو هرتز ولتاژ پالسی با طول پالس‌های نانو ثانیه با استفاده از منبع تغذیه dc

۵- اصلاح شد.

۶- rpm واحد فرکانس گرمخانه (دستگاهی که باکتری‌ها در آن آماده کشت میشود).

۷- اصلاح شد.

۸- نباید خارج از درصد گزارشی صورت بگیرد، و همه جا به صورت درصدی میزان باکتری‌ها بیان میشود. جمعیت این دسته از باکتری‌ها در حجم و یا جرم مخصوص نسبت به گونه های دیگر باکتریایی ارائه می‌شود.