



HAL
open science

Cold Plasmas And Life Applications: New Scientific Advances

Claire Douat, Thierry Dufour, João Santos Sousa

► **To cite this version:**

Claire Douat, Thierry Dufour, João Santos Sousa. Cold Plasmas And Life Applications: New Scientific Advances. *Reflats de la Physique*, 2023, 75, pp.24-30. <10.1051/refdp/202375024>. <hal-04123419>

HAL Id: hal-04123419

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-04123419v1>

Submitted on 9 Jun 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC0 1.0 - Universal - International License

Title	Cold Plasmas And Life Applications: New Scientific Advances <i>(English translation of the french outreach article entitled: Les Plasmas Froids et le Vivant : De Nouvelles Avancées)</i>
Authors	C. Douat ¹ , T. Dufour ² , J. Santos Sousa ³
Affiliations	¹ Groupe de recherche sur l'énergétique des milieux ionisés (GREMI, UMR7344 CNRS et Université d'Orléans), 14 rue d'Issoudun, BP6744, 45067 Orléans Cedex 2 ² Laboratoire de Physique des Plasmas (LPP, UMR7648, Sorbonne Université, CNRS, École polytechnique), Sorbonne Université, 4 place Jussieu, Case courrier 90, 75252 Paris Cedex 05 ³ Laboratoire de physique des gaz et des plasmas (LPGP, UMR8578 CNRS et Université Paris-Saclay), Bâtiment 210 (rue Becquerel), Faculté des Sciences d'Orsay de l'Université Paris-Saclay, 15 rue Georges Clémenceau, 91405 Orsay Cedex
Correspondence	claire.douat@univ-orleans.fr ; thierry.dufour@sorbonne-universite.fr ; joao.santos-sousa@universite-paris-saclay.fr
Ref.	Reflets phys., No. 75, pp. 24-30 (2023)
DOI	https://doi.org/10.1051/refdp/202375024
Abstract	<p>(English version) Since the early 2000s, major technological advances have enabled the emergence of cold plasmas at atmospheric pressure with low current values and temperatures close to ambient temperature. In this article, we initially outline the principal sources of cold plasma successfully used in biomedical applications, particularly emphasizing the sought-after physicochemical properties. Subsequently, we provide a state-of-the-art review of the latest medical advancements (especially in oncology and dermatology), as well as in agriculture.</p> <p><i>(Version Française) Depuis le début des années 2000, des avancées technologiques majeures ont permis l'émergence de plasmas froids à pression atmosphérique ayant de faibles valeurs de courant et des températures proches de la température ambiante. Dans cet article, nous exposons dans un premier temps les principales sources de plasma froid utilisées avec succès dans les applications biomédicales, en insistant notamment sur les propriétés physico-chimiques recherchées. Dans un second temps, nous proposons un état de l'art des dernières avancées médicales (en particulier en cancérologie et en dermatologie), ainsi qu'en agriculture.</i></p>
Keywords	(English) Plasma medicine, plasma agriculture, wound healing, cancerology, decontamination (French) Plasmas médecine, plasmas pour l'agriculture, cicatrisation des plaies, cancérologie, décontamination

I. English version

I.1. What is a cold plasma?

Cold plasmas are partially ionized gases, comprised of free electrons, ions (positive and negative), and neutral species (atoms and molecules), some of which are chemically active and emit radiation across a spectral range from ultraviolet (UV) to infrared (IR), stemming from electronic and ro-vibrational de-excitation of various excited species present.

In a cold plasma, it is the free electrons that store the most energy, such that their temperature can reach several tens of thousands of degrees Celsius. As their number is very low and their mass is far less than that of atoms and molecules (the neutrals, which make up the vast majority of the matter in cold plasmas), electrons transfer their energy to the neutrals with little efficiency and, consequently, do not heat the gas. The gas temperature is therefore substantially lower (by at least two orders of magnitude) than that of the electrons; for some cold plasmas, like those used in the biomedical field, this temperature can approach ambient temperature.

Cold plasmas are commonly used in various industrial applications, such as lighting (e.g., fluorescent tubes) and material treatment (e.g., etching and deposition) and gaseous effluent treatment (e.g., air purification). Furthermore, promising research indicates their future use in medicine and agriculture.



Figure 1. Application of a cold helium plasma jet on the skin. © GREMI, University of Orléans, CNRS

Historically, most cold plasmas are initiated as electrical discharges in a low-pressure confined gas. Thus, electrons impart their energy through collisions with atoms and/or molecules, giving rise to new chemical species that would be complicated to obtain at ambient temperature by other means. Since the start of the 21st century, researchers have developed reactors that now generate, at atmospheric pressure, cold plasmas with a temperature experienced by living tissues close to body temperature (< 40°C). This advancement has enabled the interaction of cold plasmas with living tissues without the risk of burning them, thereby expanding the spectrum of these plasmas' applications, leading to the birth of a new discipline called "plasma medicine", which brings together physicists, engineers, chemists, biologists, and doctors. Figure 1 illustrates a cold helium plasma treating a cheek. The perceived temperature is less than 40°C, which allows the plasma to interact with the skin without burning it.

1.2. What are the effects of cold plasmas on living organisms?

Cold plasmas can damage DNA and various biomolecules (proteins, lipids), as well as inactivate pathogenic agents including highly resistant ones (bacteria, viruses, fungi). They thus enable disinfection and decontamination of biological surfaces (e.g., tissues or foods), and even sterilization of inorganic surfaces (e.g., implants or medical tools), promoting blood coagulation and wound healing, initiating apoptosis (programmed cell death), and slowing tumor growth. However, despite the significant progress of plasma medicine, the interaction between tissues and cold plasma is far from being fully understood.

Currently, we understand that the mechanisms of these biological effects are based on two fundamental principles: (i) the plasma alters the cells' liquid environment and (ii) the interaction of the plasma with air produces reactive oxygen and/or nitrogen species that play a key role in the biological response. Many of these species naturally exist in the biological world and are important actors in biochemistry. For instance, they are involved in the immune system of animals and plants, act against microorganisms like microbes, inhibit tumor proliferation, are naturally generated in response to injuries, and are key signaling molecules. Thus, we distinguish long-lived species (lasting more than a minute) such as, for example, ozone (O₃), hydrogen peroxide (H₂O₂), and nitrogen dioxide (NO₂), but also short-lived species (lasting less than a minute) like the hydroxyl radical (OH) and nitric oxide (NO), among others.

The locally generated chemistry by the plasma is therefore rich and reactive, and when combined with other plasma components, such as electromagnetic radiation (from ultraviolet (UV) to infrared (IR), including visible light), the electric field, charged species, and electric current (Figure 2), can induce synergistic effects, as we will see in the examples discussed in this article.

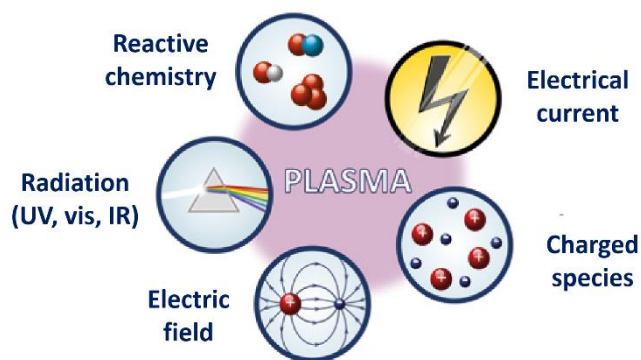


Figure 2. The different components of plasma that can interact with living organisms.

1.3. How to generate a cold plasma to influence living organisms?

Currently, the two primary sources of cold plasma utilized on living organisms are (i) dielectric barrier discharges (DBD) and (ii) cold plasma jets. These sources are commonly powered by helium, argon, air, or a mixture of these three gases.

A distinctive feature of a dielectric barrier discharge, as opposed to a conventional discharge (two simple electrodes), is the presence of one or more dielectric layers between the two electrodes. This arrangement prevents the direct passage of an electric current between the electrodes and thus averts the formation of an electric arc (thermal plasma), characterized by temperatures that can reach several thousand degrees Celsius.

In contrast to DBDs, plasma jets have the advantage of generating a cold plasma that can extend beyond the inter-electrode space and span several centimeters in the ambient air or even several meters in a capillary, thereby facilitating endoscopic treatments. Figure 3 displays examples of cold plasmas used in plasma medicine, developed in the laboratories of the Research Group on the Energetics of Ionized Media (GREMI) and the Laboratory of Gas and Plasma Physics (LPGP). The plasma is initially generated upstream (not visible in the photos) of a glass tube and then travels along the tube to ultimately exit into the ambient air. The gas channel here, which consists of helium, guides the plasma to form a cold plasma jet treating a tomato (a) or cancer cells (b). To the naked eye, the plasma appears pink in the glass channel, a characteristic color of helium, and purple outside the tube, attributable to the presence of nitrogen from the ambient air. Unfortunately, due to the brightness of the plasmas' colors, CCD sensors (Charge-Coupled Device) do not accurately capture these colors, which are not common in daily life, and may appear blue instead of purple, as in photo 3b.

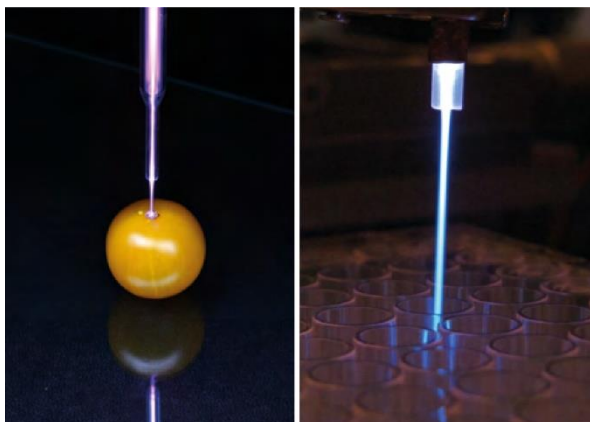


Figure 3. Cold helium plasma jets interacting with (a) a cherry tomato and (b) a carpet of cancer cells. The diameter of the jets is about 1 mm here, and their length is a few centimeters. © GREMI, University of Orleans, CNRS

Biological materials can be exposed to cold plasma through two approaches designated as direct and indirect. In the case of direct exposure, where the treated biological material is in contact with the plasma, an electric current circulates and all the plasma components (Figure 2) interact with the material. In the case of indirect exposure, charged particles and short-lived species recombine before reaching the biological material; only long-lived species created by the plasma reach the material, through diffusion or gas-phase transport. There also exists a third method, which involves exposing the biological target to a liquid medium previously activated by plasma. This medium is often water or a biological fluid that has been exposed to the plasma, for instance, for a few minutes. The plasma leads to the production of long-lived reactive species in the liquid, such as hydrogen peroxide (H_2O_2) and nitrites (NO_2^-). These species, by reacting with the biological material, can then induce various effects, including cell death or the reduction of the microbial load, as we will elaborate in the subsequent section.

1.4. Cold Plasma, an effective sterilizer

In 1857, Werner von Siemens and his collaborators first used cold plasma to decontaminate water. Research in this area then increased in the 1980s: low-pressure cold plasma sources were developed to inactivate microorganisms, particularly in the form of UV lamps, which are still commonly used today to sterilize various surfaces. Other plasma sterilizers, operating at reduced pressure, are also marketed as an innovative alternative to autoclaves and sterilizers that rely on the use of toxic chemicals. Cold plasma is capable not only of inactivating microorganisms (including ultra-resistant pathogens), prions, or viruses, but also of completely eliminating organic matter.

Currently, no resistance to cold plasma has ever been observed in microorganisms. Indeed, the sterilizing effect of cold plasma results from its various components (UV radiation, electric current, electric field, reactive species, charged species - cf. Figure 2), against which the adaptation strategies of microorganisms (including dormancy) fail. As a result, it is highly unlikely that microorganisms would succeed in developing resistance to all these components and their potential synergy. For example, the

synergy between ions and reactive species explains why the outer layers of spores and bacteria are more easily eroded, leading to an increased decrease in their viability. The electrostatic force caused by the accumulation of charges on the outer surface of the cell membrane can overcome the membrane's tensile force and cause its rupture. The cell, no longer protected from the external environment, will die. The ions and reactive species of the plasma gas are adsorbed on the surface of the bacteria and chemically react with the molecules of the cell membrane, forming toxic compounds and secondary radicals, and disrupting their metabolic processes. UV radiation in the wavelength range of 200 to 300 nm is also known to cause lethal genetic damage to cells. It represents the dominant mechanism of the bactericidal action of low-pressure cold plasmas, which is rarely the case at atmospheric pressure.

The anti-pathogenic action of cold plasmas is not limited to the cleaning of material; this effect is also sought for treating diseases in the hospital.

1.5 Towards hospital use

Chronic wounds and ulcers are very slow to heal (typically over six weeks) and affect nearly two million people in France, especially those with poor blood circulation, such as diabetics, overweight individuals, and the elderly. Conventional treatments for healing these types of wounds rely on the use of antibiotics, the efficacy of which is decreasing due to the emergence of resistant bacterial strains. If the proliferation of the chronic wound is not controlled, amputation of the limb then becomes inevitable. In this context, cold plasmas quickly became of interest to researchers and doctors, as they represent a potential alternative to antibiotics.

In 2012, the first clinical trials of cold plasma treatment were carried out in Munich, Germany. Scientists showed that this treatment was painless and did not induce side effects like an allergic reaction. Moreover, they also demonstrated that the bacterial load present on the wound was lower after cold plasma treatment than after conventional treatment. These very promising results then encouraged other research teams to work in this field. Thus, a team from Berlin showed that cold plasma had not only sterilizing properties, but also healing properties by accelerating the renewal of skin cells. Several hundred patients with chronic wounds have been treated with cold plasma, and today some German hospitals, such as those in Göttingen and Rostock, offer to treat these wounds in this way.

Following these promising results, scientists carried out a case study in 2015 on patients severely affected by head and neck cancer. At this stage of cancer, patients present very painful cancerous ulcers. The bacterial nest at the ulcers is very significant and gives off a nauseating smell that is difficult for the patient's surroundings to bear. The primary aim of this study was to use cold plasma as palliative treatment. Despite large cancerous ulcers, this study showed that cold plasma treatment remained painless, and that after several days of treatment, the pain associated with these ulcers decreased. Moreover, the nauseating smell due to the bacteria's activity greatly decreased, allowing patients to regain a more decent life in relation to their surroundings. Most notably, some patients benefited from a superficial and partial remission of

the tumor accompanied by a healing of the ulcerations: a very encouraging result for the future (Figure 4). In the past, cold plasmas have shown to have anti-tumor effects on mice¹, but the study described here was one of the first conducted on humans.



Figure 4. Observation of partial tumor remission in a patient with neck cancer. Source: H.-R. Mettelmann et al., *Clinical Plasma Medicine*, 9 (2018) 6-18. Permission: Elsevier

I.6. Why is cold plasma effective in healing wounds?

At present, only partial explanations can be provided. By interacting with the air, cold plasma forms reactive species of nitrogen and oxygen. Among these species, hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl (OH), and ozone (O_3) are bactericidal and are likely one of the main causes of the sterilizing effects of atmospheric pressure cold plasmas. In some cases, UV rays can also kill bacteria. However, explanations related to the stimulation of healing remain vague, even though some leads are considered.

Nitric oxide (NO), generated by cold plasma when it interacts with air, is naturally present in the body. Its primary functions are the dilation of blood vessels and the stimulation of angiogenesis. The latter corresponds to the formation of new blood vessels. Angiogenesis and regulation of blood flow are two crucial parameters for healing. They allow the wound to be irrigated and supplied with the oxygen and nutrients necessary for remodeling. Blood circulation in a chronic wound is very poor, and it is possible that the supply of nitric oxide by cold plasma improves blood flow, thereby stimulating healing.

The work of a team from Orleans working at GREMI supports this. Researchers observed that after treating mice with a cold plasma, their partial pressure and blood flow increase locally by a factor of two to four. The correlation between nitric oxide and this increase has not been demonstrated, but this study could explain how healing could be improved with cold plasma treatment.

In dermatology, cold plasmas are also being studied to treat skin diseases such as acne and rosacea. Researchers are also trying to use it in dentistry to treat cavities or abscesses, and in ophthalmology to sterilize the cornea during operations. Due to their flexibility and promising results, cold plasmas are also being studied in cosmetics. For example, temporary plasma-induced oxidation improves skin permeability, thus facilitating the penetration of certain active molecules. Another example is the fight against skin aging. Keratinocytes make up the majority of the cells found in the epidermis (superficial layer of the skin) and have a 28-day regeneration cycle. A lengthening of this cycle leads to an

accumulation of older cells, and induces skin aging. Thanks to its regenerative potential, cold plasma would then be able to fight against aging by stimulating cells to renew themselves more quickly.

Studies have also shown that a liquid medium exposed to cold plasma sees its pH decrease (acidification). This is a wholly advantageous trend for combating stress induced by external factors (sun, tobacco, and pollution), as these modify the pH of the skin and disrupt the proper functioning of cells. As the natural pH of the skin is acidic (between 4 and 6), cold plasma would rebalance it under stress.

Finally, it has also been shown that using cold plasma could be an interesting alternative for whitening teeth. The applications are plentiful, and today this field has also opened up to all biological applications, particularly in agriculture.

I.7. Growing plants with cold plasma

The foundations of civilization rest on agriculture, which remains as important today as it was at its inception ten millennia ago. Although heavy mechanization and the intensive use of phytosanitary products have revolutionized the productivity of agricultural commodities in the last two centuries, these paradigms increasingly seem limited from a sustainable development perspective. Several challenges remain unanswered: how can we feed a constantly growing global population? How can we grow seeds and plants using processes that do not pollute soils or groundwater? How can agriculture adapt to a context marked by global warming? No single technology currently provides an absolute answer to these questions, thus necessitating the use of various technological approaches, whether ancestral or innovative, as long as they embrace the diversity and specificities of our planet's landscapes. In this context, the use of cold plasma in agriculture serves as a supplement or synergy with other approaches such as permaculture, forestry, and hydroponics. Cold plasma can be used to affect the germinative properties of seeds, their resistance to pathogen attacks, as well as the growth properties of the seedling and plant, and the nutritional quality and food safety of the finished products from agriculture.

Dormancy and vigor are among the most critical germinative properties. Dormancy is a form of slowed life adopted by seeds to minimize risks related to a hostile environment. For example, *Arabidopsis thaliana* seeds (with a 30% water content) can see their germination rates increase from 25% to 70% after a mere ten-minute treatment with cold plasma. Plasma also affects vigor: a biological property measurable from the duration corresponding to 50% of germinated seeds. As illustrated in Figure 5, lentil seeds exposed to a cold helium plasma for twenty minutes subsequently see their median germination time reduced from 32 to 23 hours. Improving dormancy and vigor constitute, among others, substantial agro-economic challenges as they directly impact production costs through agricultural yields and labor costs. One of the main effects of cold plasma on the seed is its ability to modify its surface properties: plasma can thus make seed coats hydrophilic, contributing to better water absorption.

¹ J.-M. Pouvesle et É. Robert, « Applications thérapeutiques des plasmas froids atmosphériques », *Reflets de la physique* 33, (2013) 17-22

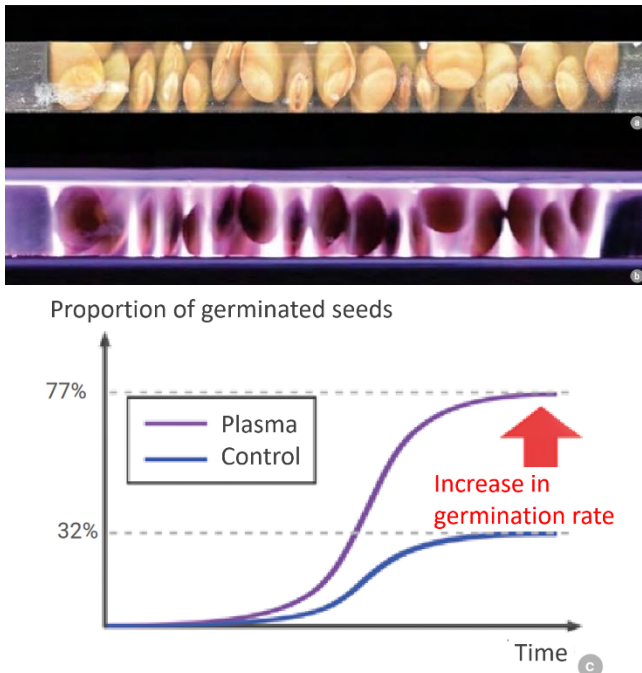


Figure 5. Influence of exposure to cold plasma on the germination of lentil seeds. (a) Lentil seeds placed in a dielectric barrier device without plasma. (b) Lentil seeds placed in a dielectric barrier device with cold helium plasma flow. At this stage, the difference is not yet noticeable. (c) Germination curves of untreated seeds (control) and cold plasma treated seeds. © LPP (Laboratoire de Physique des Plasmas)

The question of watering seeds sown in the earth and managing environmental stress (biotic and abiotic) presents new challenges. Once again, cold plasmas have proved to be valuable tools, not for treating the seeds directly, but for modifying the chemical composition of the water used for watering them. This approach involves enriching the water with reactive species - including nitrates (NO_3), nitrites (NO_2), hydrogen peroxide (H_2O_2), and ammonium (NH_4) - capable of promoting the growth of seedlings and plants, while preserving the quality of the soils, particularly the structural and functional properties of the microbiota. Researchers have thus shown the possibility of doubling the growth of pepper plants after 60 days (Figure 6). In addition to these growth-accelerating effects, studies have also highlighted the beneficial role of these reactive species in enhancing the resistance of seedlings to various pathogens, be they bacteria, fungi, or aphids. To date, researchers are trying to overcome two technological barriers: how to activate large volumes of water with cold plasma to meet, for example, the needs of vegetable greenhouses, and how to do so such that plasma technology has as low an energy cost - and therefore a carbon footprint - as possible.

Once fruits, vegetables, grains, seeds, sprouts, and other earth products are harvested, it is necessary to preserve their nutritional value and ensure their sanitary quality for a sufficiently long time before consumption. Once again, cold plasmas can be used to play a sterilizing role, with the constraints of not accelerating lipid oxidation, not reducing their vitamin content, and avoiding the loss of sensory characteristics. For example, cold plasma

treatment of strawberries placed under packaging allows to divide by a factor of 100 the background microflora (aerobic mesophilic bacteria, yeasts and molds), without altering the rate of respiration, the texture and the color of these fruits. The literature cites many other examples (tomatoes, tangerines, kiwis...), which if needed, proves the extraordinary potential of cold plasmas to meet our requirements in terms of food safety.

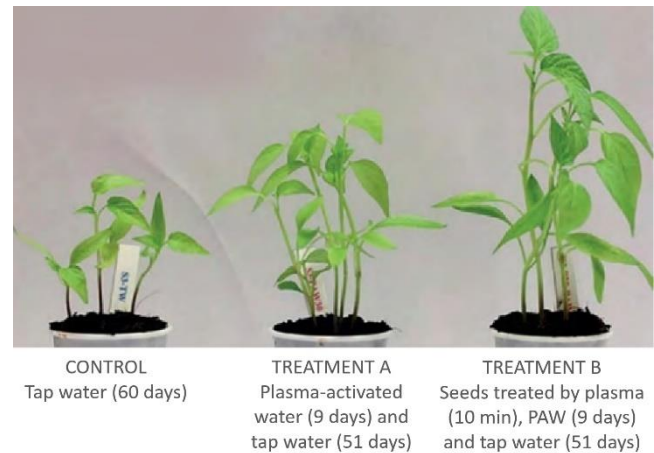


Figure 6. Growth of a pepper plant after 60 days of daily watering. On the left, the plant watered with tap water; in the center, the plant has been watered with cold plasma activated water; and, on the right, the same conditions as in the center, but where the seed has also been treated with cold plasma. Source: L. Swachandiran and A. Khacef, *RSC Adv.* 7 (2017) 1822-1832. Permission: Royal Society of Chemistry. © GREMI, University of Orleans, CNRS

1.8. Conclusion

Cold plasmas represent an innovative technological approach to address the extraordinary diversity of issues raised by life sciences, whether it comes to medical or environmental applications, public health or individual pathologies. Cold plasma treatments have thus provided solid proof of concept and successful treatments where conventional approaches were limited, or even failed. The science of cold plasmas promises intensive research and major innovations that will mark the 21st century.

II. Version française

II.1. Qu'est-ce qu'un plasma froid ?

Les plasmas froids sont des gaz partiellement ionisés, constitués d'électrons libres, d'ions (positifs et négatifs) et d'espèces neutres (atomes et molécules), dont certaines chimiquement actives, et qui émettent du rayonnement sur une gamme spectrale allant de l'ultraviolet (UV) à l'infrarouge (IR), provenant de la désexcitation électronique et ro-vibrationnelle des différentes espèces excitées présentes.

Dans un plasma froid, ce sont les électrons libres qui stockent le plus d'énergie, de sorte que leur température peut atteindre

quelques dizaines de milliers de degrés Celsius. Comme leur nombre est très faible et leur masse très inférieure à celle des atomes et des molécules (les neutres, qui représentent la quasi-totalité de la matière dans les plasmas froids), les électrons transfèrent avec peu d'efficacité leur énergie aux neutres et, par conséquent, ne chauffent pas le gaz. La température du gaz est donc largement inférieure (par au moins deux ordres de grandeur) à celle des électrons ; pour certains plasmas froids, comme ceux utilisés dans le domaine biomédical, cette température peut avoisiner la température ambiante.

Les plasmas froids sont couramment utilisés dans diverses applications industrielles, telles que l'éclairage (ex. tubes fluorescents) et le traitement des matériaux (ex. gravure et dépôt) et des effluents gazeux (ex. purification de l'air). Par ailleurs, des recherches prometteuses laissent entrevoir leur utilisation future dans les domaines de la médecine et de l'agriculture.

Historiquement, la plupart des plasmas froids sont amorcés sous forme de décharges électriques dans un gaz confiné à basse pression. Ainsi, les électrons communiquent leur énergie par collisions avec les atomes et/ou les molécules, donnant naissance à de nouvelles espèces chimiques qu'il serait compliqué d'obtenir à température ambiante par d'autres approches. Depuis le début du XXI^e siècle, les chercheurs ont développé des réacteurs permettant d'obtenir, cette fois à pression atmosphérique, des plasmas froids ayant une température ressentie par les tissus vivants proche de la température corporelle (< 40°C). Cette avancée a permis de faire interagir les plasmas froids avec des tissus vivants sans risque de les brûler, et ainsi d'élargir le spectre d'applications de ces plasmas, donnant alors naissance à une nouvelle discipline nommée « médecine au plasma » (en anglais Plasma Medicine), qui réunit des physiciens, des ingénieurs, des chimistes, des biologistes et des médecins. La Figure 1 illustre un plasma froid d'hélium traitant une joue. La température ressentie est inférieure à 40°C, ce qui permet au plasma d'interagir avec la peau sans la brûler.



Figure 1. Application d'un jet de plasma froid d'hélium sur la peau. © GREMI, Université d'Orléans, CNRS

II.2. Quels sont les effets des plasmas froids sur le Vivant ?

Les plasmas froids peuvent endommager l'ADN et diverses biomolécules (protéines, lipides), mais aussi inactiver des agents pathogènes y compris ultrarésistants (bactéries, virus, champignons). Ils permettent ainsi de désinfecter et décontaminer des surfaces biologiques (ex. tissus ou aliments), et même de stériliser des surfaces inorganiques (ex. implants ou outils médicaux), de favoriser la coagulation sanguine et la cicatrisation des plaies, d'initier l'apoptose (mort cellulaire programmée) et de ralentir la croissance tumorale. Cependant, aujourd'hui, même si la médecine au plasma avance à grands pas, l'interaction entre les tissus et le plasma froid est loin d'être totalement comprise.

Actuellement, nous savons que les mécanismes de ces effets biologiques reposent sur deux principes fondamentaux : (i) le plasma modifie l'environnement liquide des cellules et (ii) l'interaction du plasma et de l'air produit des espèces chimiques réactives de l'oxygène et/ou de l'azote qui jouent un rôle clef dans la réponse biologique. Beaucoup de ces espèces ont naturellement présentes dans le monde vivant et sont des acteurs importants en biochimie. Par exemple, elles interviennent au niveau du système immunitaire des animaux et des plantes, agissent contre les micro-organismes comme les microbes, inhibent la prolifération tumorale, sont générées naturellement en réponse aux blessures et sont des molécules de signalisation clefs. On distingue ainsi des espèces à longue durée de vie (supérieure à la minute) comme, par exemple, l'ozone (O₃), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le dioxyde d'azote (NO₂), mais aussi des espèces à courte durée de vie (inférieure à la minute) comme le radical hydroxyle (OH) et le monoxyde d'azote (NO), entre autres.

La chimie générée localement par le plasma est donc riche et réactive, et la combinaison avec les autres composantes du plasma, comme le rayonnement électromagnétique (des ultraviolets (UV) aux infrarouges (IR), en passant par le visible), le champ électrique, les espèces chargées et le courant électrique (Figure 2), peut induire des effets synergiques, comme nous le verrons dans les exemples abordés dans cet article.

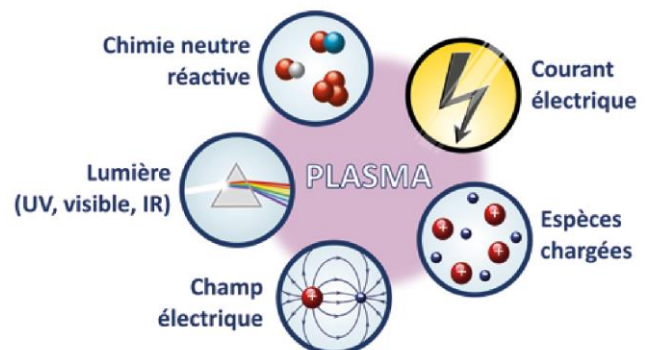


Figure 2. Les différents composants du plasma pouvant interagir avec le Vivant.

II.3. Comment générer un plasma froid pour agir sur le Vivant ?

Actuellement, les deux principales sources de plasma froid utilisées sur le Vivant sont (i) les décharges à barrière diélectrique (DBD) et (ii) les jets de plasma froid. Ces sources sont souvent alimentées par de l'hélium, de l'argon, de l'air ou un mélange de ces trois gaz.

La particularité d'une décharge à barrière diélectrique par rapport à une décharge classique (deux électrodes simples) est la présence d'une ou plusieurs couches diélectriques entre les deux électrodes, permettant ainsi d'éviter le passage d'un courant électrique directement entre les électrodes et, donc, la formation d'un arc électrique (plasma thermique), caractérisé par des températures pouvant atteindre plusieurs milliers de degrés Celsius.

À l'inverse des DBD, les jets de plasma ont l'avantage de générer un plasma froid pouvant aller au-delà de l'espace inter-électrode et s'étendre sur plusieurs centimètres dans l'air ambiant, voire sur plusieurs mètres dans un capillaire, rendant ainsi possible les traitements endoscopiques. La Figure 3 montre des exemples de plasmas froids utilisés en médecine au plasma et développés au laboratoire du Groupe de recherches sur l'énergétique des milieux ionisés (GREMI) et au Laboratoire de physique des gaz et des plasmas (LPGP). Le plasma est initialement généré en amont (non visible sur les photos) d'un tube en verre, et se propage ensuite le long du tube pour finalement sortir dans l'air ambiant. Le canal de gaz, qui est ici de l'hélium, conduit le plasma pour former un jet de plasma froid traitant une tomate (a) ou des cellules cancéreuses (b). À l'œil nu, la couleur du plasma apparaît rose dans le canal en verre, couleur caractéristique de l'hélium, et violette à l'extérieur du tube, ce qui est dû à la présence d'azote provenant de l'air ambiant. Malheureusement, la couleur des plasmas étant très vive, les capteurs CCD (Charge-Coupled Device – Dispositif à transfert de charges) ne sont pas très fidèles à ces couleurs peu présentes dans la vie de tous les jours, et peuvent apparaître bleues au lieu de violettes, comme sur la photo 3b.

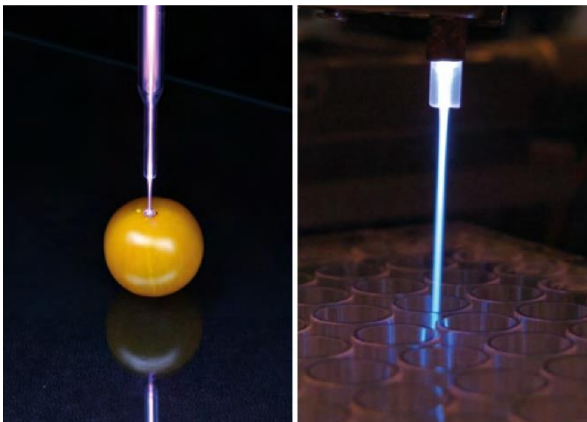


Figure 3. Jets de plasma froid d'hélium en interaction avec (a) une tomate cerise et (b) un tapis de cellules cancéreuses. Le diamètre des jets est ici d'environ 1 mm, et leur longueur de quelques centimètres. © GREMI, Université d'Orléans, CNRS

Les matériaux biologiques peuvent être exposés au plasma froid selon deux approches qualifiées de directe et indirecte. Dans le cas d'une exposition directe, où le matériau biologique traité est en contact avec le plasma, un courant électrique circule et toutes les composantes du plasma (Figure 2) interagissent avec le matériau. Dans le cas d'une exposition indirecte, les particules chargées et les espèces à courte durée de vie se recombinent avant d'atteindre le matériau biologique ; seules les espèces à longue durée de vie créées par le plasma atteignent le matériau, par diffusion ou transport en phase gazeuse. Une troisième méthode existe également, et consiste à exposer la cible biologique à un milieu liquide préalablement activé par plasma. Ce milieu est bien souvent de l'eau ou un liquide biologique qui a été exposé au plasma, par exemple durant quelques minutes. Le plasma engendre la production dans le liquide d'espèces réactives à longue durée de vie, telles que du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des nitrites (NO_2^-). Ces espèces, en réagissant avec le matériau biologique, peuvent ensuite induire divers effets, notamment la mort cellulaire ou encore la réduction de la charge microbienne, comme nous allons l'expliquer dans la partie suivante.

II.4. Le plasma froid, un stérilisateur efficace

En 1857, Werner von Siemens et ses collaborateurs ont utilisé, pour la première fois, un plasma froid pour décontaminer de l'eau. La recherche dans ce domaine s'est ensuite accrue dans les années 1980 : des sources de plasmas froids à basse pression ont ainsi été développées pour inactiver des micro-organismes, en particulier sous forme de lampes UV qui sont encore aujourd'hui couramment utilisées pour stériliser diverses surfaces. D'autres stérilisateurs plasmas, fonctionnant à pression réduite, sont également commercialisés comme alternative innovante aux autoclaves et stérilisateurs dont l'action repose sur l'utilisation de produits chimiques toxiques. Le plasma froid est capable non seulement d'inactiver des micro-organismes (y compris des agents pathogènes ultrarésistants), des prions ou des virus, mais aussi d'éliminer complètement la matière organique.

Actuellement, aucune résistance des micro-organismes au plasma froid n'a jamais été observée. En effet, l'effet stérilisant du plasma froid résulte de ses divers composants (rayonnement UV, courant électrique, champ électrique, espèces réactives, espèces chargées – cf. Figure 2), face auxquelles les stratégies d'adaptation des micro-organismes (notamment la dormance) sont mises en échec. En conséquence, il est hautement improbable que des micro-organismes réussissent à développer une résistance face à tous ces composants et à leur synergie potentielle. Par exemple, la synergie entre les ions et les espèces réactives explique pourquoi les couches externes des spores et des bactéries sont plus facilement érodées, conduisant à une diminution accrue de leur viabilité. La force électrostatique provoquée par l'accumulation de charges sur la surface externe de la membrane cellulaire peut vaincre la force de traction de la membrane et provoquer sa rupture. La cellule n'étant plus protégée de l'environnement extérieur mourra. Les ions et les espèces réactives du gaz plasmagène sont adsorbés à la surface des bactéries et réagissent chimiquement avec les molécules de la membrane cellulaire, formant des composés toxiques et des radicaux secondaires, et perturbant leurs processus métaboliques. Le rayonnement UV dans la gamme de

longueur d'onde de 200 à 300 nm est aussi connu pour causer des dommages génétiques mortels aux cellules. Il représente le mécanisme dominant de l'action bactéricide des plasmas froids à basse pression, ce qui est rarement le cas à pression atmosphérique.

L'action anti-pathogène des plasmas froids ne se limite pas qu'au nettoyage de matériel ; cet effet est également recherché pour soigner des pathologies à l'hôpital.

II.5. Vers une utilisation en hôpital

Les plaies chroniques et les ulcères cicatrisent très difficilement (typiquement en plus de six semaines) et touchent près de deux millions de personnes en France, notamment celles ayant une mauvaise circulation sanguine, comme les diabétiques, les personnes en surpoids et les personnes âgées. Les traitements conventionnels pour soigner ce type de plaies reposent sur l'utilisation d'antibiotiques dont l'efficacité devient de moins en moins grande en raison de l'apparition de souches bactériennes résistantes. Si la prolifération de la plaie chronique n'est pas contrôlée, l'amputation du membre devient alors inévitable. Dans ce contexte, les plasmas froids ont alors très vite intéressé les chercheurs et les médecins, car ils représentent une alternative potentielle aux antibiotiques.

En 2012, les premiers essais cliniques par traitement au plasma froid ont été réalisés en Allemagne à Munich. Les scientifiques ont montré que ce traitement était indolore et n'induisait pas d'effets secondaires comme une réaction allergique. De plus, ils ont aussi démontré que la charge bactérienne présente sur la plaie était plus faible après un traitement au plasma froid qu'après un traitement conventionnel. Ces résultats très prometteurs ont alors incité d'autres équipes de recherche à travailler dans ce domaine. Ainsi, une équipe berlinoise a montré que le plasma froid n'avait pas seulement des propriétés stérilisantes, mais également des propriétés cicatrisantes en accélérant le renouvellement des cellules de peau. Plusieurs centaines de patients atteints de plaies chroniques ont été traités par plasma froid, et aujourd'hui certains hôpitaux allemands comme à Göttingen et à Rostock proposent de soigner ainsi ces plaies.

À la suite de ces résultats prometteurs, des scientifiques ont réalisé en 2015 une étude de cas sur des patients sévèrement affectés d'un cancer de la tête et du cou. À ce stade du cancer, les patients présentent des ulcères cancéreux très douloureux. Le nid bactérien au niveau des ulcères est très important et dégage une odeur nauséabonde difficilement supportable pour l'entourage du malade. Le but premier de cette étude a été d'utiliser le plasma froid en traitement palliatif. Malgré des ulcères cancéreux importants, cette étude a montré que le traitement au plasma froid restait indolore, et qu'après plusieurs jours de traitement, la douleur liée à ces ulcères diminuait. De plus, l'odeur nauséabonde due à l'activité des bactéries a fortement diminué, permettant aux patients de retrouver une vie plus décente vis-à-vis de leur entourage. Le plus remarquable est que certains patients ont

bénéficié d'une rémission superficielle et partielle de la tumeur accompagnée d'une cicatrisation des ulcérations : un résultat très encourageant pour l'avenir (Figure 4). Par le passé, les plasmas froids ont démontré avoir des effets anti-tumoraux sur des souris², mais l'étude décrite ici a été une des premières réalisées sur des humains.



Figure 4. Observation d'une rémission partielle de la tumeur d'un patient atteint d'un cancer du cou. Source : H.-R. Mettelmann et al., *Clinical Plasma Medicine*, 9 (2018) 6-18. Permission : Elsevier

II.6. Pourquoi le plasma froid est-il efficace pour soigner des plaies ?

Actuellement, seules des explications partielles peuvent être fournies. En interagissant avec l'air, le plasma froid forme des espèces réactives de l'azote et de l'oxygène. Parmi ces espèces, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'hydroxyle (OH) et l'ozone (O₃) sont bactéricides et sont probablement l'une des causes principales des effets stérilisants des plasmas froids à pression atmosphérique. Dans certains cas, les UV sont aussi capables de tuer des bactéries. En revanche, les explications relatives à la stimulation de la cicatrisation restent vagues, même si certaines pistes sont envisagées.

Le monoxyde d'azote (NO), généré par le plasma froid lorsqu'il interagit avec l'air, est naturellement présent dans le corps. Ses principales fonctions sont la vasodilatation des vaisseaux sanguins ainsi que la stimulation de l'angiogenèse. Cette dernière correspond à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. L'angiogenèse et la régulation du flux sanguin sont deux paramètres primordiaux de la cicatrisation. Ils permettent d'irriguer la plaie et de lui apporter l'oxygène et les nutriments nécessaires pour la remodeler. La circulation sanguine au niveau d'une plaie chronique est très mauvaise, et il est possible que l'apport de monoxyde d'azote par le plasma froid améliore la circulation du sang, stimulant ainsi la cicatrisation.

Les travaux d'une équipe orléanaise travaillant au GREMI vont dans ce sens. Les chercheurs ont observé qu'après avoir traité des souris par un plasma froid, leur pression partielle et leur flux sanguins augmentent localement d'un facteur deux à quatre. La corrélation entre le monoxyde d'azote et cette augmentation n'a pas été démontrée, mais cette étude pourrait expliquer comment la cicatrisation serait améliorée avec un traitement au plasma froid.

En dermatologie, les plasmas froids sont également étudiés pour traiter des maladies cutanées comme l'acné et la rosacée. Les

² J.-M. Pouvesle et É. Robert, « Applications thérapeutiques des plasmas froids atmosphériques », *Reflète de la physique* 33, (2013) 17-22

chercheurs tentent aussi de l'utiliser en odontologie pour traiter des caries ou des abcès, et en ophtalmologie pour stériliser la cornée lors d'opérations. De par leur flexibilité et leurs résultats prometteurs, les plasmas froids sont également étudiés en cosmétique. Par exemple, l'oxydation temporaire induite par plasma améliore la perméabilité de la peau, facilitant ainsi la pénétration de certaines molécules actives. Un autre exemple concerne la lutte contre le vieillissement de la peau. Les kératinocytes constituent la majorité des cellules se trouvant dans l'épiderme (couche superficielle de la peau) et ont un cycle de régénération de 28 jours. Un allongement de ce cycle entraîne une accumulation des cellules plus anciennes, et induit un vieillissement de la peau. Grâce à son potentiel régénérateur, le plasma froid serait alors capable de lutter contre le vieillissement en stimulant les cellules à se renouveler plus rapidement.

Les études ont également montré qu'un milieu liquide exposé au plasma froid voit son pH diminuer (acidification). Il s'agit d'une tendance tout à fait avantageuse pour lutter contre le stress induit par des facteurs extérieurs (soleil, tabac et pollution), car ces derniers modifient le pH de la peau et altèrent le bon fonctionnement des cellules. Comme le pH naturel de la peau est acide (entre 4 et 6), le plasma froid permettrait de le rééquilibrer lors d'un stress.

Finalement, il a aussi été montré qu'utiliser un plasma froid pouvait être une alternative intéressante pour blanchir les dents. Les applications ne manquent pas, et aujourd'hui ce domaine s'est également ouvert à l'ensemble des applications biologiques, et plus particulièrement à l'agriculture.

II.7. Faire pousser des plantes par plasma froid

Les fondements de la civilisation reposent sur l'agriculture, qui reste importante aujourd'hui comme à ses débuts il y a dix millénaires. Même si au cours des deux derniers siècles la mécanisation lourde et l'utilisation intensive de produits phytosanitaires ont révolutionné la productivité des denrées agricoles, ces paradigmes apparaissent de plus en plus limités dans une perspective de développement durable. Plusieurs enjeux restent en suspens : comment nourrir une population mondiale qui est en constante augmentation ? Comment cultiver des semences et des plantes par des procédés qui ne polluent ni les sols ni les nappes phréatiques ? Comment l'agriculture peut-elle évoluer dans un contexte marqué par le réchauffement climatique ? Autant de questions auxquelles aucune technologie seule n'apporte à ce jour de réponse absolue. D'où la nécessité de recourir à diverses approches technologiques, qu'elles soient ancestrales ou innovantes, pour peu qu'elles épousent la diversité et les spécificités des paysages de notre planète. Dans ce contexte, l'utilisation des plasmas froids en agriculture permet de se positionner en complément ou en synergie avec d'autres approches comme la permaculture, la sylviculture et l'hydroponie. Les plasmas froids peuvent être utilisés d'une part pour agir sur les propriétés germinatives des semences, sur leur résistance aux attaques d'agents pathogènes, mais aussi sur les propriétés de croissance de la plantule et de la plante, ainsi que sur la qualité

nutritive et la sécurité alimentaire des produits finis issus de l'agriculture.

La dormance et la vigueur comptent parmi les plus importantes propriétés germinatives. La dormance est une forme de vie ralentie empruntée par des semences pour minimiser les risques liés à un environnement hostile. Ainsi des graines d'*Arabidopsis Thaliana* (ayant une teneur en eau de 30%) peuvent voir leurs taux de germination passer de 25% à 70% après un simple traitement au plasma froid de dix minutes. Le plasma permet également d'agir sur la vigueur : une propriété biologique mesurable à partir de la durée correspondant à 50% de semences germées. Ainsi, comme illustré dans la Figure 5, des graines de lentilles exposées pendant vingt minutes à un plasma froid d'hélium voient ensuite leur temps de germination médian passer de 32 à 23 heures. Améliorer la dormance et la vigueur constituent, entre autres, des enjeux agro-économiques considérables puisqu'elles impactent directement les coûts de production à travers les rendements agricoles et le coût de la main d'œuvre. Un des principaux effets du plasma froid sur la semence est celui de pouvoir modifier ses propriétés de surface : le plasma peut ainsi hydrophiliser le tégument des semences et contribuer à une meilleure imbibition hydrique.

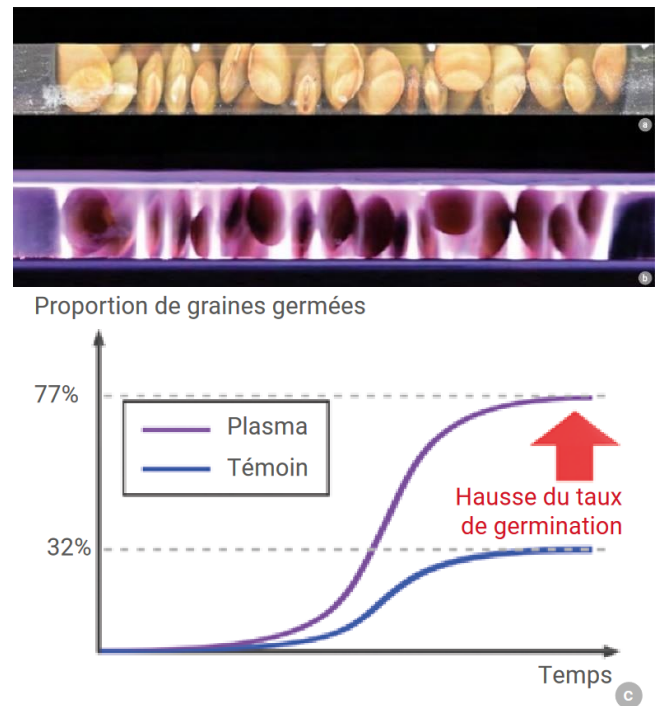


Figure 5. Influence de l'exposition à un plasma froid sur la germination de graines de lentilles. (a) Semences de lentilles placées dans un dispositif à barrière diélectrique sans plasma. (b) Semences de lentilles placées dans un dispositif à barrière diélectrique avec plasma froid d'hélium en écoulement. À ce stade, il n'est pas encore possible de faire la différence. (c) Courbes de germination des semences non traitées (témoin) et traitées au plasma froid. © LPP (Laboratoire de Physique des Plasmas)

La question de l'arrosage des graines semées dans la terre et de la gestion des stress environnementaux (biotiques et abiotiques) comporte de nouveaux enjeux. Là encore, les plasmas froids se sont révélés être des outils précieux, non pas pour traiter directement les semences mais pour modifier la composition

chimique de l'eau destinée à les arroser. Cette approche consiste à enrichir l'eau en espèces réactives – notamment en nitrates (NO_3), nitrites (NO_2), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et ammonium (NH_4) – capables de favoriser la croissance des plantules et des plantes, tout en préservant la qualité des sols, en particulier les propriétés structurelles et fonctionnelles du microbiote. Ainsi, des chercheurs ont montré la possibilité d'augmenter d'un facteur deux la croissance de plants de poivrons au bout de 60 jours (Figure 6). Outre ces effets accélérant la croissance, des études ont également souligné le rôle bénéfique de ces espèces réactives dans la résistance accrue des plantules à divers agents pathogènes, qu'il s'agisse de bactéries, de champignons ou de pucerons. À ce jour, les chercheurs tentent de lever deux verrous technologiques : comment activer par plasma froid de grands volumes d'eau pour satisfaire par exemple les besoins de serres potagères, et comment s'y employer pour que la technologie plasma ait un cout énergétique – et donc une empreinte carbone – aussi faible que possible.

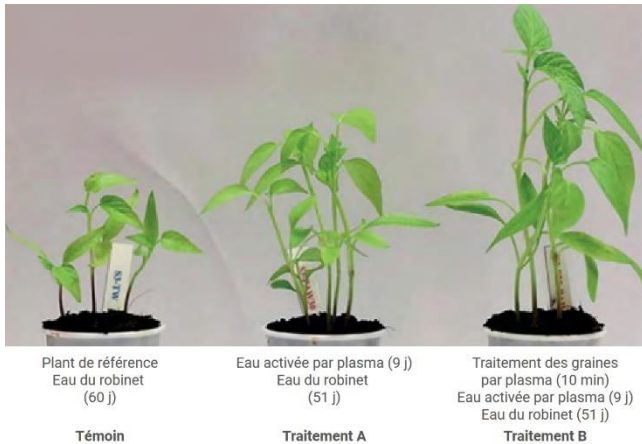


Figure 6. Croissance d'un plant de poivron après 60 jours d'arrosage quotidien. À gauche, le plant arrosé avec de l'eau du robinet ; au centre, le plant a été arrosé avec de l'eau activée par plasma froid ; et, à droite, mêmes conditions qu'au centre, mais où la graine a été en plus traitée au plasma froid. Source : L. Swachandiran et A. Khacef, RSC Adv. 7 (2017) 1822-1832. Permission : Royal Society of Chemistry. © GREMI, Université d'Orléans, CNRS

Une fois les fruits, légumes, céréales, graines, pousses et autres produits de la terre récoltés, il convient de préserver leur valeur nutritive et d'assurer leur qualité sanitaire sur une durée suffisamment longue avant consommation. Là encore, les plasmas froids peuvent être utilisés pour jouer un rôle stérilisant, avec toutefois les contraintes de ne pas accélérer l'oxydation des lipides, de ne pas réduire leurs teneurs en vitamines et d'éviter la perte des caractéristiques sensorielles. À titre d'exemple, le traitement au plasma froid de fraises placées sous emballage permet de diviser d'un facteur 100 la microflore de fond (bactéries mésophiles aérobies, levures et moisissures), sans altérer le taux de respiration, la texture et la couleur de ces fruits. La littérature fait état de nombreux autres exemples (tomates, mandarines, kiwis...), preuve s'il en faut de l'extraordinaire potentiel des plasmas froids à satisfaire nos exigences en matière de sécurité alimentaire.

II.8. Conclusion

Les plasmas froids constituent une approche technologique innovante pour répondre à l'extraordinaire diversité des problématiques soulevées par les sciences de la vie, qu'il s'agisse d'applications médicales ou environnementales, de santé publique ou de pathologies individuelles. Les traitements au plasma froid ont ainsi offert des preuves de concept solides et des traitements couronnés de succès là où des approches conventionnelles restaient limitées, voire mises en échec. La science des plasmas froids est la promesse de recherches intensives et d'innovations majeures qui jalonnent le XXI^e siècle.