**Aplicación de Plasma Frío a Baja Presión para Esterilización de Implementos Médicos**

**Luis M. López1, Cesar A. Paltan1, Jorge I. Fajardo Seminario1, Edwuin Carrasquero Rodriguez2**

1Grupo de Investigación en Nuevos Materiales y Procesos de Transformación, Ingeniería Mecánica, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador. Email: cpaltan@ups.edu.ec

2 Grupo de Investigación en Caracterización, Procesamiento y Protección de Materiales, Facultad de Ciencias de la Ingeniería, Universidad Estatal de Milagro, Ecuador. Email: ecarrasqueror@unemi.edu.ec

**Resumen**

El plasma frío es una nueva tecnología no térmica que utiliza gases reactivos energéticos y no reactivos, usado habitualmente en la ciencia de los materiales para modificar las propiedades de la superficie de una amplia gama de materiales. Además, es probada como una herramienta poderosa para la inactivación de varios patógenos (p. ej., bacterias, hongos, virus) en la industria alimentaria, agricultura y el campo médico para inactivar los microbios contaminantes como limpieza de equipos médicos. En el presente estudio los principales modos de acción se deben a la luz ultravioleta y al proceso de ionización por plasma frío, modificando variables de tiempo, presión, potencia, combinando estos parámetros con un gas reactivo y un gas inerte se encontró la mejor combinación de procedimiento de aplicación de plasma frio a baja presión con la finalidad que todo equipo quirúrgico que sea utilizado para el tratamiento de los pacientes sea esterilizado; no se requieren agentes químicos antimicrobianos y el proceso no es contaminante ambientalmente. Se pudo obtener la eliminación total de los microrganismos y los tiempos de tratamiento efectivos oscilaron entre 10 y 30 min con potencias del generador de 30% y 70%, la presión aplicada varía entre 0.3 a 2 mbar según las diferentes combinaciones de las variables mencionadas y gas utilizado. La eficiencia del proceso se demuestra en la comparativa de las variables de tiempo y potencia frente al sistema de plasma térmico actual con peróxido de hidrogeno, teniendo el estudio una mejora 50% con respecto al tiempo necesario para esterilizar y con potencias no mayores al 70% del generador.

**Palabras clave:** Plasma no térmico; Tratamiento antimicrobiano; Plasma de baja presión; Desinfección médica.

**Abstract**

Cold plasma is a new non-thermal technology using energetic and non-reactive reactive gases, commonly used in materials science to modify the surface properties of a wide range of materials. Additionally, it is proven as a powerful tool for the inactivation of various pathogens (eg, bacteria, fungi, viruses) in the food industry, agriculture, and the medical field to inactivate contaminating microbes such as cleaning medical equipment. In the present study, the main modes of action are due to ultraviolet light and the ionization process by cold plasma, modifying variables of time, pressure, power, combining these parameters with a reactive gas and an inert gas, the best combination of low-pressure cold plasma application procedure so that all surgical equipment used for the treatment of patients is sterilized; chemical antimicrobial agents are not required, and the process is environmentally friendly. It was possible to obtain the total elimination of the microorganisms and the effective treatment times ranged between 10 and 30 min with generator powers of 30% and 70%, the applied pressure varies between 0.3 to 2 mbar according to the different combinations of the mentioned variables and gas used. The efficiency of the process is demonstrated in the comparison of the variables of time and power against the current thermal plasma system with hydrogen peroxide, the study having an improvement of 50% with respect to the time necessary to sterilize and with powers not greater than 70 %. of the generator.

**Keywords:** Non-thermal plasma; Antimicrobial treatment; Low pressure plasma; Medical disinfection.

# Introducción

En los últimos años, ha incrementado la demanda de nuevas técnicas de esterilización para uso en dispositivos clínicos, estas técnicas se basan en los tratamientos químicos y térmicos convencionales que son familiares para los procesos de limpieza de equipos médicos[1]–[3].

El plasma ha tomado importancias en este desarrollo y describiendo como el cuarto estado de la materia [4], se puede pensar en el plasma como un gas de baja presión parcialmente ionizado que se compone de iones, electrones y fotones ultravioleta (UV), así como especies neutras reactivas (radicales y átomos y moléculas excitados) con energía suficiente para romper enlaces covalentes e iniciar diversos procesos químicos [5], [6]. Los gases que se utilizan para generar este plasma son uniones de moléculas (N2, O2, CO2) o átomos individuales (He, Ne, Ar) sin una estructura a gran escala. Si se incrementa la energía, las estructuras intramoleculares e intraatómicas se descomponen, liberando electrones e iones libres [4]. Los plasmas generados en dispositivos convencionales no ionizan todos los átomos en un gas, incluso para plasmas calientes [4], [7]. Dentro de estos plasmas calientes, todas las especies son extremadamente reactivas, dentro de los plasmas más fríos (no térmico), algunas de las especies químicas son más reactivas que otras, por esta razón la composición química del gas se convierte en un factor determinante en los tipos de reacciones que puede iniciar el plasma [8], [9]. La energía requerida para ionizar gases en plasma puede provenir de una variedad de fuentes, como calor, electricidad, luz láser, radiación y compresión extremadamente rápida [10]. Como una nube de partículas activas, el plasma retiene la energía impartida por un período de tiempo, cuando las partículas activas se recombinan entre sí, la energía se libera como luz visible y ultravioleta en el proceso de recombinación [4], [8], [9], [11].

En los procesos de esterilización, los microorganismos se esterilizan como resultado del contacto directo con iones de alta energía cinética y electrones, así como con los rayos UV, las partículas activas en el plasma pueden reaccionar modificando la energía superficial, liberando la energía almacenada en las bacterias o virus a los que se dirigen [12]–[14]. La luz ultravioleta es el principal factor de esterilización del plasma, está limitada debido a la falta de penetración y la fuerte dependencia de la distancia desde la fuente de luz ultravioleta, lo que puede dar como resultado una esterilización microbiana no homogénea, esto se debe a que la radiación ultravioleta no penetra en la mayoría de los materiales y el vidrio y los plásticos absorben cantidades significativas de radiación [15]. Por lo tanto, la esterilización de microorganismos en superficies por irradiación UV depende en gran medida de la estructura de la superficie, la cantidad de energía que debe impartir un plasma dependerá de su composición química, densidad y temperatura [16], [17]. Debido a que el calor y el vapor no son adecuados para usar en materiales sensibles al calor, el peróxido de hidrógeno y el óxido de etileno se usan comúnmente como técnicas de esterilización a baja temperatura para dispositivos médicos [12]. Sin embargo, la propiedad cancerígena de los residuos de óxido de etileno requiere que el tiempo necesario para la ventilación completa sea mayor que el tiempo real necesario para esterilizar los materiales [12], [18], [19]. Otra tecnología de esterilización interesante es la radiación gamma para materiales sensibles al calor, pero es costosa y su operación segura requiere un sitio aislado [12], [20].

Las diversas limitaciones de las técnicas de esterilización existentes han requerido el desarrollo de técnicas alternativas que sean económicas, efectivas y que no generen residuos tóxicos. Diferentes sistemas de esterilización se han trabajo como son la irradiación con haces de electrones [21], altos campos eléctricos [22], pulsos de alto voltaje [23], irradiación de luz pulsada [24], aplicaciones de iones negativos y positivos [25], [26]. Sin embargo, las eficiencias de estos nuevos sistemas de esterilización solo estaban garantizadas a altas temperaturas de tratamiento [12].

El plasma frío es una nueva tecnología no térmica que utiliza gases reactivos energéticos y no reactivos, usado habitualmente en la ciencia de los materiales para modificar las propiedades de la superficie de una amplia gama de materiales [4]. Se está desarrollando una alta variedad de sistemas de plasma frío que funcionan a presiones atmosféricas o en cámaras de tratamiento de baja presión [27]. Además, es probada como una herramienta poderosa para la inactivación de varios patógenos (p. ej., bacterias, hongos, virus) en la industria alimentaria, agricultura y el campo médico para inactivar los microbios contaminantes como limpieza de equipos médicos [28]. Este método empleado de desinfección flexible utiliza electricidad y un gas portador. Las limitaciones clave para el plasma frío son el estado relativamente temprano del desarrollo tecnológico, la variedad y complejidad del equipo necesario y los impactos en gran parte inexplorados del tratamiento con plasma frío en implementos médicos [29]. Además, los modos de acción antimicrobianos para varios sistemas de plasma frío varían según el tipo de plasma frío generado [30].

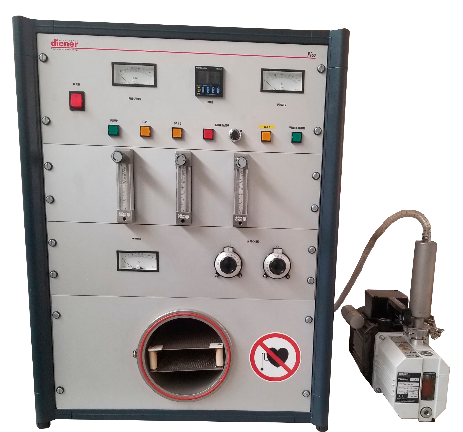
En el presente estudio se desarrolló un sistema de plasma frio a baja presión sin producir residuos nocivos ni aumentar la temperatura, los principales modos de acción de esterilización se deben a la luz ultravioleta y al proceso de ionización por plasma frío, modificando variables de tiempo, presión, potencia, combinando estos parámetros con un gas reactivo y un gas inerte se encontró la mejor combinación de procedimiento de aplicación de plasma frio a baja presión con la finalidad que el equipo quirúrgico que sea utilizado para el tratamiento de los pacientes sea esterilizado; no se requieren agentes químicos antimicrobianos y el proceso no es contaminante ambientalmente.

# Materiales y métodos

## Materiales

### Generador de plasma frío a baja presión

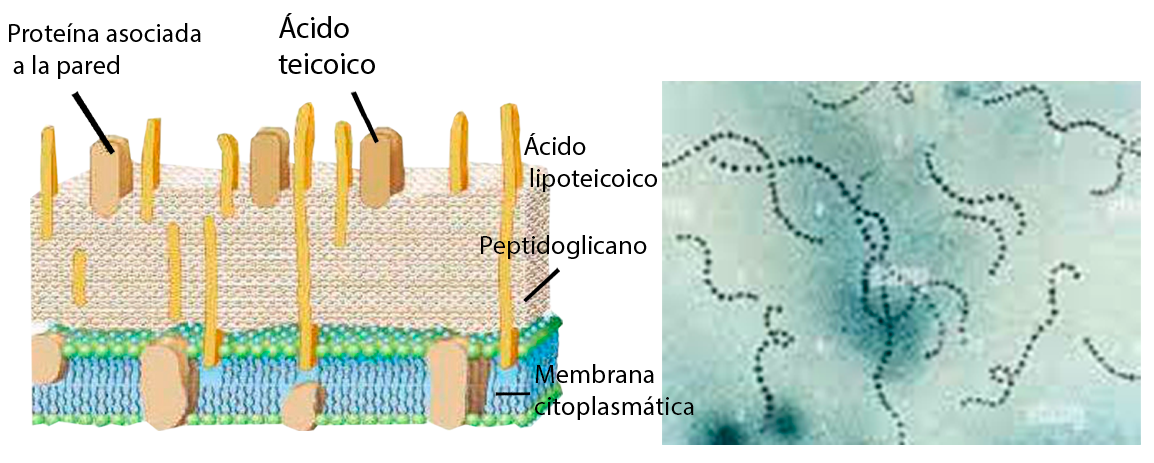
El equipo generador es de la marca Diner Electronic GmbH + Co. KG de la serie PICO Low Pressure Systems como se observa en la Figura 1, para la generación de plasma frío a baja presión cuenta con un gabinete eléctrico de 500×500×70mm, posee una cámara cilíndrica de acero inoxidable con un diámetro de 150mm y una profundidad de 320mm, con 3 canales de alimentación para gas y una bomba de vacío Leyblod, tipo Trivac E2 con 2.5 m3/h de caudal y con un sistema de control semi automático. El generador eléctrico trabaja con una señal de radio frecuencia de 13.56 MHz con una potencia máxima de 100 W y presiones desde 0.14 hasta 10 mbar.



**Figura 1.** Generador de plasma frío a baja presión. Fuente: equipo autores.

### Estreptococo Alfa Hemolitico

El Estreptococo es un patógeno bacteriano de relevancia médica por sus secuelas no supurativas, que esta constituido por carbohidratos, proteínas y ácido lipoteicoico y teicoico [31].



**Figura 2.** Estructura de la bacteria Estreptococo.

### Escherichia Coli

El género Escherichia consta de basilos gramnegativos anaerobios facultativos de la familia enterobacteriaceae, constituido por carbohidratos, proteínas y ácidos [32].

## Métodos

El calor es considerado como el principal método de esterilización si el material soporta altas temperaturas, sin que este sufra cambios en su microestructura y mantenga sus propiedades físicas. El calor hmedo destruye microorganismos por desnaturalización de proteinas y el calor seco destruye los microorganismos por oxidación de sus componentes celulares [33]. El plasma frío a baja presión ofrece un proceso de esterilización eficiente en diferentes sustratos sin modificarlos superficialmente aunque el material del sustrato no soporte altas temperaturas, y la eficacia del mismo depende de la energía suministrada y la cantidad de energía transferida para cambiar la densidad de los electrones que esta directamente relacionada con la potencia del generador de plasma con el volumen de gas inerte.

J Braithwaite [34] presenta la ecuación de descarga en estado estacionario con un plasma generado con un campo eléctrico (modelo de dimensión cero) considerando la teoría cinética e introduciendo modelos de ruptura eléctrica, límites de plasma y las estructuras longitudinal y transversal de las descargas, donde la energía se pierde al fondo de cámara por las colisiones elásticas del gas ionizado.

Asi que la energía suministrada en una descarga termina en calor, luz y con una pequeña fracción de un flujo de partículas que interviene en la química de la superficie modificandola de diferentes maneras y que puede explicarse con la ecuación (1) donde:

|  |  |
| --- | --- |
|  | (1) |

Al lado derecho se presentan las contribuciones de energía, donde la primera explica la energía promedio para producir un par de partículas electrón–ión, más una cantidad extra debido a las pérdidas por las colisiones de las partículas no ionizantes, considerando que esta cantidad extra disminuye a medida que aumenta , el segundo relaciona la energía de los iones en las capas límite de carga que puede ser comparado como una descarga de voltaje axial que depende de la física de los límites, y el tercer término explica la descarga de la energía térmica del electrón [34].

|  |  |
| --- | --- |
|  | (2) |

La ecuación (2) sugiere que se puede esperar que la densidad de un plasma de descarga aumente con la potencia de entrada y que se puede usar de manera más efectiva para obtener un plasma más denso si la temperatura de los electrones es más alta (la ionización es más eficiente porque el término es más pequeño) y la energía de los límites es más baja (el término es más bajo) [34].

En este contexto en el primer experimento se aplico una descarga de plasma frío de argón y oxigeno al 50% cada uno, con una pureza de gas del 99,9%, controlando los parámetros del generador como se indica en la Tabla 1, para realizar la esterelización de una superficie de acero quirurgico T-304 que previamente fue sumergido en una solución clorada al 10% durante dos minutos para evitar contaminantes antes de colocar una cepa contaminante de Estreptococo Alfa Hemolitico con una concentración de 200 a 250 mil unidades formadoras de colonia por ml.

**Tabla 1.** Parámetros de generación de plasma para la bacteria Estreptococo Alfa Hemolitico.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ensayos con oxígeno y argón | | | |
| Ensayo | Tiempo (min) | Presión (mbar) | Potencia (%) |
| 1 | 10 | 0,3 | 30 |
| 2 | 30 | 0,3 | 30 |
| 3 | 10 | 2 | 30 |
| 4 | 30 | 2 | 30 |
| 5 | 10 | 2 | 70 |
| 6 | 30 | 2 | 70 |
| 7 | 10 | 0,3 | 70 |
| 8 | 30 | 0,3 | 70 |

**Fuente:** elaboración propia.

Se realizaron ocho experimentos con réplica considerando dos niveles para cada parámetro de generación. Para el segundo experimento se aplico una descarga de plasma frío de oxigeno al 100% con una pureza de gas al 99,9%, con los parámetros del generador que se presentan en la tabla (2), para realizar la esterilización en la superficie de una placa petri contaminada con la bacteria Escherichia Coli con una concentración de 10000 a 150 mil unidades formadoras de colonia por ml.

**Tabla 2.** Parámetros de generación de plasma para la bacteria Escherichia Coli.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ensayos con oxígeno | | | |
| Ensayo | Tiempo (min) | Presión (mbar) | Potencia (%) |
| 1 | 20 | 0,3 | 30 |
| 2 | 20 | 0,3 | 50 |
| 3 | 20 | 0.3 | 90 |

**Fuente:** elaboración propia.

Se realizaron tres experimentos con réplica considerando un tiempo y una presión constante en la generación de plasma y una potencia en tres niveles para determinar el efecto de esta sobre la bacteria.

# Análisis y Resultados

En la esterilización de la superficie de acero qirúrgico contaminada con la bacteria Estreptococo Alfa Hemolitico, se obtuvieron en los ocho experimentos (incluida la réplica) con la potencia del generador al 70%, un cultivo negativo de proliferación bacteriana en el laboratorio, como se indica en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Resultados de la esterilización con plasma de argón y oxígeno.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Ensayos con oxígeno y argón | | | | |
| Ensayo | Tiempo (min) | Presión (mbar) | Potencia (%) | Cultivo |
| 1 | 10 | 0,3 | 30 | + |
| 2 | 30 | 0,3 | 30 | + |
| 3 | 10 | 2 | 30 | + |
| 4 | 30 | 2 | 30 | + |
| 5 | 10 | 2 | 70 | - |
| 6 | 30 | 2 | 70 | - |
| 7 | 10 | 0,3 | 70 | - |
| 8 | 30 | 0,3 | 70 | - |
| Réplica | | | | |
| 1 | 10 | 0,3 | 30 | + |
| 2 | 30 | 0,3 | 30 | + |
| 3 | 10 | 2 | 30 | + |
| 4 | 30 | 2 | 30 | + |
| 5 | 10 | 2 | 70 | - |
| 6 | 30 | 2 | 70 | - |
| 7 | 10 | 0,3 | 70 | - |
| 8 | 30 | 0,3 | 70 | - |

**Fuente:** elaboración propia.

Como se observa la potencia de entrada al 70% aumenta la densidad del plasma independiente a los tiempos y presión establecidos para los experimentos, debido a que se generan la cantidad necesaria de partículas de electrón – ión para esterilizar la bacteria.

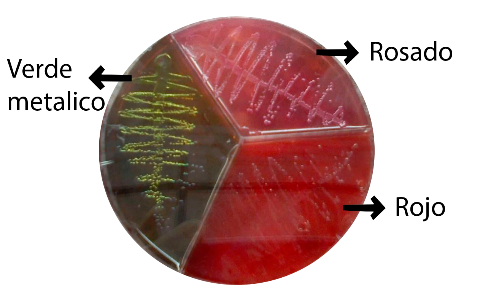
La Tabla 4 presenta los resultados de los cultivos después de aplicar la descarga de plasma de oxígeno sobre la bacteria Escherichia Coli, donde la esterilización se genera al 50 y 90% de la potencia del generador a un tiempo de exposición y presión del gas constante.

**Tabla 2.** Resultados de la esterilización con plasma de oxígeno.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Ensayos con oxígeno | | | | |
| Ensayo | Tiempo (min) | Presión (mbar) | Potencia (%) | Cultivo |
| 1 | 20 | 0,3 | 30 | + |
| 2 | 20 | 0,3 | 50 | - |
| 3 | 20 | 0.3 | 90 | - |
| Réplica | | | | |
| 1 | 20 | 0,3 | 30 | + |
| 2 | 20 | 0,3 | 50 | - |
| 3 | 20 | 0.3 | 90 | - |

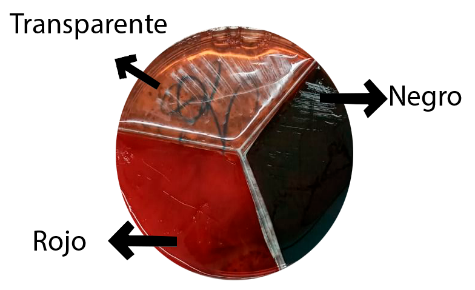
**Fuente:** elaboración propia.

En la Figura 3 se puede observar el cultivo del experimento 1, en tres medios diferentes, en sangre donde presenta un color rojo, en Mac Conkey con un color rosado y en EMB donde presenta un color verde metálico que indica un crecimiento de la bacteria Escherichia coli. Los cultivos se realizaron a una temperatura de 37 grados centígrados con un tiempo de incubación de 24 horas.



**Figura 3.** Cultivo de la bacteria aplicado el 30% de la potencia del generador de plasma. Fuente: elaboración propia.

En la Figura 4 se observa los cultivos de la bacteria después de aplicarse una descarga de plasma de oxígeno al 50% de potencia del generador donde no existe proliferación de la bacteria, de igual manera se presento el mismo resultado con una potencia al 90%.



**Figura 4.** Cultivo de la bacteria aplicado el 50% de la potencia del generador de plasma. Fuente: elaboración propia.

# Conclusiones

El plasma frío a baja presión de oxígeno y su combinación con argón funciona a nivel atómico/molecular y actúa sobre toda la superficie contaminada sin alterar el sustrato base, donde el estudio paramétrico de la generación del plasma frío a baja presión es fundamental para comprender y controlar la desactivación de las bacterias Estreptococo Alfa Hemolitico y Escherichia Coli donde la potencia de generación de plasma superior al 50% mostro una acción antimicrobiana contra las bacterias probadas al eliminar las proteinas y ácidos con las que estan compuestas, presentando resultados negativos en la proliferación de los cultivos posteriores a la aplicación de plasma realizadas en pruebas in vitro de laboratorio. La optimización y la ampliación a niveles de tratamiento comercial requieren una comprensión más completa de este proceso. Sin embargo, esta área de la tecnología se muestra prometedora y es objeto de investigación activa para mejorar la eficacia.

# Referencias

[1] S. Pérez Davila, L. González Rodríguez, S. Chiussi, J. Serra, y P. González, «How to sterilize polylactic acid based medical devices?», *Polymers*, vol. 13, n.o 13, p. 2115, 2021.

[2] T. Von Woedtke, S. Reuter, K. Masur, y K.-D. Weltmann, «Plasmas for medicine», *Phys. Rep.*, vol. 530, n.o 4, pp. 291-320, 2013.

[3] W. A. Rutala y D. J. Weber, «Guideline for disinfection and sterilization of prion-contaminated medical instruments», *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 31, n.o 2, pp. 107-117, 2010.

[4] B. A. Niemira, «Cold Plasma Decontamination of Foods», *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, vol. 3, n.o 1, pp. 125-142, 2012, doi: 10.1146/annurev-food-022811-101132.

[5] F. L. Tabares y I. Junkar, «Cold plasma systems and their application in surface treatments for medicine», *Molecules*, vol. 26, n.o 7, p. 1903, 2021.

[6] G. Nageswaran, L. Jothi, y S. Jagannathan, «Plasma assisted polymer modifications», en *Non-thermal plasma technology for polymeric materials*, Elsevier, 2019, pp. 95-127.

[7] A. Fridman, A. Chirokov, y A. Gutsol, «Non-thermal atmospheric pressure discharges», *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 38, n.o 2, pp. R1-R24, ene. 2005, doi: 10.1088/0022-3727/38/2/R01.

[8] M. A. Lieberman y A. J. Lichtenberg, *Principles of Plasma Discharges and Materials Processing*. John Wiley & Sons, 2005.

[9] B. A. Niemira y A. Gutsol, «Nonthermal plasma as a novel food processing technology», *Nonthermal Process. Technol. Food*, pp. 272-288, 2011.

[10] N. L. Aleksandrov, S. V. Kindysheva, M. M. Nudnova, y A. Y. Starikovskiy, «Mechanism of ultra-fast heating in a non-equilibrium weakly ionized air discharge plasma in high electric fields», *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 43, n.o 25, p. 255201, 2010.

[11] R. R. Sharma, S. V. R. Reddy, y S. Sethi, «Cold plasma technology for surface disinfection of fruits and vegetables», en *Postharvest disinfection of fruits and vegetables*, Elsevier, 2018, pp. 197-209.

[12] K.-N. Lee, K. Paek, W.-T. Ju, y Y.-H. Lee, «Sterilization of bacteria, yeast, and bacterial endospores by atmospheric-pressure cold plasma using helium and oxygen», *J. Microbiol.*, vol. 44, n.o 3, pp. 269-275, 2006.

[13] A. Barjasteh, Z. Dehghani, P. Lamichhane, N. Kaushik, E. H. Choi, y N. K. Kaushik, «Recent progress in applications of non-thermal plasma for water purification, bio-sterilization, and decontamination», *Appl. Sci.*, vol. 11, n.o 8, p. 3372, 2021.

[14] A. R. Ganesan, U. Tiwari, P. N. Ezhilarasi, y G. Rajauria, «Application of cold plasma on food matrices: A review on current and future prospects», *J. Food Process. Preserv.*, vol. 45, n.o 1, p. e15070, 2021.

[15] Y. S. Tapia-Guerrero *et al.*, «Effect of UV and Gamma Irradiation Sterilization Processes in the Properties of Different Polymeric Nanoparticles for Biomedical Applications», *Materials*, vol. 13, n.o 5, p. 1090, mar. 2020, doi: 10.3390/ma13051090.

[16] C. Otto, S. Zahn, F. Rost, P. Zahn, D. Jaros, y H. Rohm, «Physical methods for cleaning and disinfection of surfaces», *Food Eng. Rev.*, vol. 3, n.o 3, pp. 171-188, 2011.

[17] M. Moisan, J. Barbeau, S. Moreau, J. Pelletier, M. Tabrizian, y Y. L’H, «Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms», *Int. J. Pharm.*, vol. 226, n.o 1-2, pp. 1-21, 2001.

[18] G. R. Holyoak, S. Wang, Y. Liu, y T. D. Bunch, «Toxic effects of ethylene oxide residues on bovine embryos in vitro», *Toxicology*, vol. 108, n.o 1-2, pp. 33-38, 1996.

[19] A. D. Lucas *et al.*, «Residual ethylene oxide in medical devices and device material», *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater. Off. J. Soc. Biomater. Jpn. Soc. Biomater. Aust. Soc. Biomater. Korean Soc. Biomater.*, vol. 66, n.o 2, pp. 548-552, 2003.

[20] S. Affatato, G. Bersaglia, I. Foltran, P. Taddei, G. Fini, y A. Toni, «The performance of gamma-and EtO-sterilised UHWMPE acetabular cups tested under severe simulator conditions. Part 1: role of the third-body wear process», *Biomaterials*, vol. 23, n.o 24, pp. 4839-4846, 2002.

[21] J. De Lara, P. S. Fernández, P. M. Periago, y A. Palop, «Irradiation of spores of Bacillus cereus and Bacillus subtilis with electron beams», *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 3, n.o 4, pp. 379-384, 2002.

[22] K. Uemura y S. Isobe, «Developing a new apparatus for inactivating Escherichia coli in saline water with high electric field AC», *J. Food Eng.*, vol. 53, n.o 3, pp. 203-207, 2002.

[23] T. Ohshima y M. Sato, «Bacterial sterilization and intracellular protein release by a pulsed electric field», *Recent Prog. Biochem. Biomed. Eng. Jpn. I*, pp. 113-133, 2004.

[24] K. Takeshita *et al.*, «Damage of yeast cells induced by pulsed light irradiation», *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 85, n.o 1-2, pp. 151-158, 2003.

[25] J. O. Noyce y J. F. Hughes, «Bactericidal effects of negative and positive ions generated in nitrogen on Escherichia coli», *J. Electrost.*, vol. 54, n.o 2, pp. 179-187, 2002.

[26] J. O. Noyce y J. F. Hughes, «Bactericidal effects of negative and positive ions generated in nitrogen on starved Pseudomonas veronii», *J. Electrost.*, vol. 57, n.o 1, pp. 49-58, 2003.

[27] M. Laroussi, «Low Temperature Plasma-Based Sterilization: Overview and State-of-the-Art», *Plasma Process. Polym.*, vol. 2, n.o 5, pp. 391-400, 2005, doi: 10.1002/ppap.200400078.

[28] M. Domonkos, P. Tichá, J. Trejbal, y P. Demo, «Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma Technology in Medicine, Agriculture and Food Industry», *Appl. Sci.*, vol. 11, n.o 11, Art. n.o 11, ene. 2021, doi: 10.3390/app11114809.

[29] J.-W. Lackmann *et al.*, «Photons and particles emitted from cold atmospheric-pressure plasma inactivate bacteria and biomolecules independently and synergistically», *J. R. Soc. Interface*, vol. 10, n.o 89, p. 20130591, dic. 2013, doi: 10.1098/rsif.2013.0591.

[30] M. Laroussi, «Cold Plasma in Medicine and Healthcare: The New Frontier in Low Temperature Plasma Applications», *Front. Phys.*, vol. 8, 2020.

[31] M. Rivera, «Estreptococo Beta Hemolítico grupo A (Streptococcus pyogenes)», *Los Com. Investig.*, p. 47, 1998.

[32] T. A. Gomes *et al.*, «Diarrheagenic escherichia coli», *Braz. J. Microbiol.*, vol. 47, pp. 3-30, 2016.

[33] J.-F. Ituna-Yudonago, Y.-R. Galindo-Luna, O. García-Valladares, R. B. y Brown, R. Shankar, y J. Ibarra-Bahena, «Review of solar-thermal collectors powered autoclave for the sterilization of medical equipment», *Alex. Eng. J.*, vol. 60, n.o 6, pp. 5401-5417, 2021.

[34] N. S. J. Braithwaite, «Introduction to gas discharges», *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 9, n.o 4, p. 517, 2000.