

RESSALVA

Atendendo a solicitação do(a) autor(a), o texto completo desse trabalho será disponibilizado no repositório a partir de 01/09/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

SABRINA DE MOURA ROVETTA NOGUEIRA

**EFEITOS DE LÍQUIDOS ATIVADOS COM PLASMA
ATMOSFÉRICO SOBRE *Candida albicans***

2024

SABRINA DE MOURA ROVETTA NOGUEIRA

**EFEITOS DE LÍQUIDOS ATIVADOS COM PLASMA
ATMOSFÉRICO SOBRE *Candida albicans***

Tese apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

Área: Microbiologia/Imunologia. Linha de pesquisa: Métodos de controle de micro-organismos de interesse médico-odontológico.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Yumi Koga Ito

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Sávio Pessoa

São José dos Campos

2024

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2024]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Nogueira, Sabrina de Moura Rovetta

Efeitos dos líquidos ativados com plasma atmosférico sobre *Candida albicans* / Sabrina de Moura Rovetta Nogueira. - São José dos Campos : [s.n.], 2024.

83 f. : il.

Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2024.

Orientador: Cristiane Yumi Koga Ito

Coorientador: Rodrigo Sávio Pessoa

1. Líquido ativado com plasma. 2. Gliding arc. 3. *Candida albicans*. 4. Gases em plasma. I. Ito, Cristiane Yumi Koga, orient. II. Pessoa, Rodrigo Sávio, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Tit. Cristiane Yumi Koga Ito (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Felipe de Souza Miranda

Instituto Tecnológico de Aeronáutica

Engenharia Aeronáutica e Mecânica

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Laura Soares Souto Lepesqueur

Faculdade São Leopoldo Mandic

Profa. Associada. Fernanda Lourenção Brighenti

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Faculdade de Odontologia de Araraquara

Campus Araraquara

Profa. Tit. Janete Dias Almeida

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 01 de março de 2024.

DEDICATÓRIA

Dedico a conquista deste trabalho, o qual eu tenho tanto orgulho de ter executado, ao meu querido esposo Otávio Nogueira, por todo o seu amor e cumplicidade em todos os momentos, e por não deixar eu desistir nunca.

Ao meu grande amor, meu filho Júlio César, por dar um significado único em minha vida.

Aos meus pais por sempre ter incentivado os meus estudos, a toda a minha família, por me incentivar e acreditar nesse sonho.

Por fim, dedico esta obra a todos que de algum modo, possam em um futuro ser beneficiados pelo conhecimento que este trabalho gerou.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder o milagre da vida, e por todas as maravilhosas obras que realizou e continua realizando em minha vida.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, campus de São José dos Campos, ao Programa de pós-graduação em Biopatologia Bucal, Docentes e pessoal técnico administrativo.

À minha orientadora Profa Tit. Cristiane Yumi Koga-Ito, por absolutamente tudo, por acreditar em mim, ter sempre palavras sábias e motivadoras em momentos que não eram favoráveis. Obrigada por ser amiga e humana, compreender as limitações humanas, obrigada por me inspirar todos os dias como pessoa e profissional.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Rodrigo Sávio Pessoa por toda atenção e carinho e assistência na execução deste projeto, principalmente por ter sido o suporte em toda a parte experimental dos líquidos ativados com plasma (LAPS).

À Assistente de Suporte Acadêmico Clélia Aparecida de Paiva, pela amizade, ouvido, risadas, pelas palavras, pelo incentivo de não deixar eu desistir, simplesmente por insistir, vá em frente, e por fim, não menos importante por todos os repiques e meios de cultura plaqueados (e foram muitos), todo o *background* da parte experimental microbiológica,

Ao Dr. Felipe Miranda e a aluna de iniciação científica Micaela Shiotani do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA), por toda a sua atenção e ajuda com a parte experimental da LAPs.

A todos os colegas do laboratório Genoma por suas contribuições relevantes que ajudaram a aprimorar a tese.

Ao aluno de doutorado Diego Moraes por toda a ajuda experimental e técnica na execução das análises de citotoxicidade.

Ao meu esposo Otávio Augusto, que esteve sempre comigo em todas as horas importantes da minha vida, sempre me incentivando, apoiando, elogiando, estimulando e principalmente me ouvindo. Muito obrigada por estar junto comigo neste desafio, inclusive por ter ajudado na parte experimental desse trabalho, que sem você não teria sido possível realizar, muito obrigada, te amo.

A minha mãe por sempre ter me incentivado a estudar desde criança, comprando livros, almanaques de atividades de passatempo, gibis, contando histórias que faziam minha imaginação ir além, me ajudando com as tarefas da escola, tomando meus ditados para as provas.

A toda a minha família, meu pai, Simone, sogros, tias, vós e vô por acreditarem em mim me apoiarem incondicionalmente nesta fantástica jornada em busca do conhecimento.

"A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original".

Albert Einstein

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	10
RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 PROPOSIÇÃO	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Obtenção e caracterização dos líquidos ativados com plasma (LAP)	20
3.2 Quantificação de espécies reativas nos líquidos ativados com plasma	23
3.2.1 Quantificação por espectrofotometria	23
3.2.2 Quantificação por tiras reativas	24
3.3 Análise físico-química dos líquidos ativados com plasma e controles	25
3.4 LAPs: transporte, armazenamento e estabilidade	26
3.5 Cepas e Condições de Crescimento	28
3.6 Efeito dos LAPs sobre células planctônicas de <i>C. albicans</i>	29
3.7 Efeito dos LAPs sobre biofilmes de <i>C. albicans</i>	30
3.8 Ensaio de citotoxicidade dos líquidos ativados	32
3.9 Análise dos Dados	33
4 RESULTADOS	34
4.1 Avaliação físico-química dos líquidos ativados por plasma	34

4.2 Avaliação das espécies reativas formadas durante a ativação dos líquidos por plasma	37
4.2.1 Análise por espectroscopia	37
4.2.2 Análise por fitas reativas	42
4.3 Determinação da ação inibitória de água destilada ativada por plasma frente células planctônicas de <i>C. albicans</i>	44
4.3.1 Determinação da ação inibitória de água destilada ativada com plasma com diferentes gases na vazão de 1,5 l/min frente a <i>C. albicans</i>	44
4.3.2 Determinação da ação inibitória da água destilada após 1 dia de ativação com plasma com diferentes gases na vazão de 3,0 l/min frente a <i>C. albicans</i> com 10 minutos de exposição.....	45
4.3.3 Determinação da ação inibitória da água destilada após 1 dia de ativação com plasma com diferentes gases na vazão de 3,0 l/min frente a <i>C. albicans</i> com 30 minutos de exposição	46
4.4 Determinação da ação inibitória de solução salina 0,9% ativada por plasma frente células planctônicas de <i>C. albicans</i>	49
4.4.1 Determinação da ação inibitória da solução salina 0,9% após 1 dia de ativação com plasma formado a partir de diferentes gases na vazão de 3,0 l/min frente a <i>C. albicans</i> com 10 minutos de exposição.....	49
4.4.2 Determinação da ação inibitória da solução salina 0,9% após 1 dia de ativação com plasma com diferentes gases na vazão de 3,0 l/min frente a <i>C. albicans</i> com 30 minutos de exposição	50
4.5 Determinação da ação inibitória dos líquidos ativados por plasma frente biofilmes de <i>C. albicans</i> com 30 minutos de tratamento	53
4.5.1 Determinação ação sobre biofilmes de 24 e 48 da água destilada ativada com plasma de argônio.....	53
4.5.1 Determinação ação sobre biofilmes de 24 e 48 da solução salina 0,9% ativada com plasma de argônio.....	54

4.6 Avaliação de citotoxicidade imediata e citotoxicidade após 24 horas dos líquidos ativados com plasma	55
5 DISCUSSÃO	57
6 CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

D1	Água destilada ativada com plasma de Argônio
D2	Água destilada ativada com plasma de Argônio e ar comprimido
D3	Água destilada ativada com plasma de ar comprimido
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
ERONS	Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
HNO ₃	Ácido nítrico
LAP	Líquidos ativados com plasma
NO ⁻²	Nitrito
NO ⁻³	Nitrato
O ₃	Ozônio
ONOOH	peroxinitrito
ORP	Potencial de oxirredução
pH	Potencial hidrogeniônico
σ	Condutividade elétrica
S1	Solução salina 0,9 ativada com plasma de Argônio
S2	Solução salina 0,9 ativada com plasma de Argônio e ar comprimido
S3	Solução salina 0,9 ativada com plasma de ar comprimido
TDS	Total de sólidos dissolvidos

Nogueira SMR. Efeitos dos líquidos ativados com plasma atmosférico sobre *Candida albicans* [Tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2024.

RESUMO

O incremento no número de casos refratários aos tratamentos convencionais e a limitação de opções terapêuticas são alguns dos desafios encontrados no tratamento da candidose bucal, apontando para a necessidade de terapias alternativas. A utilização da tecnologia de plasma de forma indireta, pela exposição prévia de líquidos *ex situ*, tem mostrado resultados promissores, trazendo inúmeras vantagens para a aplicação clínica. Até o momento, pouco se conhece sobre a atividade antifúngica do líquido ativado com plasma (LAP) e não foram detectados relatos sobre sua aplicabilidade no tratamento da candidose bucal. Com base neste cenário, o objetivo deste projeto foi avaliar a atividade do líquido ativado com plasma sobre *Candida albicans*, principal agente etiológico da candidose bucal. Para tanto, foram determinadas as condições de obtenção do LAP com maior efeito antifúngico frente a *C. albicans*. O LAP foi gerado em um reator de plasma tipo arco deslizante (*gliding arc*). Os gases empregados incluíram argônio, ar comprimido seco e suas misturas em diversas concentrações, ajustando-se o fluxo de gás e a potência conforme necessário. Avaliou-se a eficácia antifúngica de diferentes líquidos ativados contra *C. albicans*, tanto em estado planctônico quanto em biofilmes, visando identificar o mais efetivo. As espécies reativas dos LAP foram caracterizadas utilizando técnicas espectrofotométricas, juntamente com a avaliação dos parâmetros físico-químicos. Os resultados dos ensaios foram submetidos a análise estatística, estabelecendo-se um nível de significância de 5% para a interpretação dos dados. Observou-se que a solução salina 0,9% ativada com plasma de argônio (S1), água destilada ativada com plasma de argônio (D1) e água destilada ativada com a mistura dos gases argônio e ar comprimido (S2) apresentaram a maior atividade antifúngica sobre células planctônicas de *C. albicans* quando expostas por 30 minutos ao LAP. O grupo D1 apresentou maior ação frente aos biofilmes de 24 e 48 horas e o S1 frente a biofilmes de 48 horas apenas quando exposto por 30 minutos ao LAP. Ambos os LAPs apresentaram ação antifúngica após terem sido congelados e armazenados por 1 dia após a ativação. Os grupos D1 e S1 não apresentaram perfil citotóxico nos ensaios realizados. Pode-se concluir que os LAPs apresentaram ação inibitória sobre células planctônicas e sobre biofilmes de *C. albicans*, sem citotoxicidade para células de mamíferos, sugerindo seu potencial como adjuvante às terapias para o controle da candidose.

Palavras-chave: Líquido ativado com plasma. Gliding arc. *Candida albicans*.
Gases em plasma.

Nogueira SMR. Application of plasma activated liquids on Candida albicans [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2024.

ABSTRACT

The increase in the number of cases refractory to conventional treatments and the limitation of therapeutic options is due to some two challenges encountered in the treatment of oral candidiasis, pointing to the need for alternative therapies. The use of plasma technology indirectly, for the exposition of liquids *ex situ*, has shown promising results, providing numerous advantages for clinical application. Currently, little is known about the antifungal activity of plasma-activated liquid (LAP) and there are no reports on its applicability in oral candidiasis treatment. Based on this scenario, the objective of this project is to validate the application of plasma-activated liquid as an adjuvant in the treatment of oral candidiasis. Therefore, certain conditions for obtaining LAP have greater antifungal effect against Candida albicans. The LAP was generated in a gliding arc type plasma reactor. The gases used include argon, dry compressed and their mixtures in various concentrations, adjusting the gas flow and power as necessary. The antifungal efficacy of different liquids activated against C. albicans is evaluated, both in the planktonic state and in biofilms, aiming to identify the most effective. The relative species of LAP were characterized using spectrophotometric techniques, together with the evaluation of two physical-chemical parameters. The results of two tests were submitted to statistical analysis, establishing a significance level of 5% for the interpretation of the data. It was observed that the groups that presented the greatest antifungal activity in planktonic cells of C. albicans were the groups of 0.9% saline solution activated with argonium plasma (S1), or of distilled water activated with argonium plasma (D1). e or distilled water activated with a mixture of two argon gases and compressed air (S2). The D1 group presented against biofilms of 24 and 48 hours and the S1 against biofilms of only 48 hours. Both LAPs are presented with antifungal coating and have been frozen and stored for 1 day after activation. The groups D1 and S1 do not present a cytotoxic profile in the tests carried out. It can be concluded that the LAPs have antifungal activity on planktonic cells and on biofilms and do not present a toxicity profile for human cells, being potent adjuvants in therapies for or controlling infections caused by C. albicans.

Keywords: Plasma activated liquid. Gliding arc. Candida albicans. Plasma.

1 INTRODUÇÃO

A tecnologia plasma tem sido estudada e utilizada extensamente na esterilização de equipamentos médicos, indústria alimentícia, tratamento de superfícies, esterilização de grãos, esterilização interna de embalagens previamente seladas, na indústria têxtil e automotiva, assim como no tratamento de águas (Belgacem et al., 2017; Hadinoto et al., 2023; Han et al., 2023; Hoffmann et al., 2013; Konchekov et al., 2023; Laroussi et al., 2003; Narasimhan et al., 2023; Neyts, Brault, 2017; Reema et al., 2022; Xu et al., 2023).

Diferentes áreas do conhecimento vem desenvolvendo inúmeros estudos com aplicações em áreas como a energética, a fotônica, a comunicação, a exploração espacial, a física/química de materiais e com um papel em destaque às áreas médicas (Belgacem et al., 2017; Laroussi, 2018; Mohades et al., 2017; Neyts, Brault, 2017; Reiazi et al., 2017; (Bai et al., 2023; Hoppanová, Kryštofová, 2022; Ma et al., 2023). Grupos multidisciplinares sob esforços conjuntos da engenharia, física, química, biologia, odontologia e medicina, entre outros, têm produzido evidências in vitro e in vivo da eficácia e da aplicabilidade desta tecnologia, no tratamento não invasivo e indolor, de infecções persistentes a diversos tipos de câncer (Dobrynin et al., 2009; Hoffmann et al., 2013; Laroussi, 2018; Lee et al., 2016; Mohades et al., 2017; Chiappim et al., 2021b, 2021a; Faramarzi et al., 2021; Malyavko et al., 2020; Milhan et al., 2022; Pang et al., 2022; Sampaio et al., 2022; Bauer, 2019; Kim, Kim, 2021)

O plasma é conceituado como um gás parcialmente ionizado que é composto por elétrons, íons, espécies excitadas, radicais livres e fótons, cuja produção ocorre devido a ação de campos eletromagnéticos gerados por fontes de micro-ondas, radio frequência, corrente contínua ou alternada em gases nobres

(argônio ou hélio) ou moleculares (oxigênio, nitrogênio, etc.) (Bourke et al., 2017; Gates, 2018; Kong et al., 2009; Neyts, Brault, 2017). Laroussi, 1996 foi o primeiro a relatar o efeito bactericida do plasma frio, liderando desde então um expressivo número de artigos que abordam sobre seu potencial antimicrobiano ((Borges et al., 2019; Chiappim et al., 2021a; Joshi et al., 2010; Mai-Prochnow et al., 2016; Mohd Nasir et al., 2016; Rothwell et al., 2022; Vlad et al., 2019a; Wiegand et al., 2017; Yang et al., 2021)) e investigando os mecanismos físicos e químicos envolvidos no processo terapêutico da técnica (Aparecida Delben et al., 2016a; Bourke et al., 2017; Coughlan et al., 2016; Koban et al., 2010; Kong et al., 2009; Lunov et al., 2017; Neyts, Brault, 2017; Wertheimer, Coulombe, 2012; Zhao et al., 2020; Rovetta-Nogueira et al., 2023). Mais recentemente, a utilização da tecnologia do plasma de forma indireta, pela exposição de líquidos ao plasma tem sido explorada com resultados promissores (Hadinoto et al., 2023b; Hu et al., 2022; Tampieri et al., 2023). O efeito antimicrobiano da água ativada com plasma (plasma activated water, LAPS) frente a *Escherichia coli* foi associado à geração de condições oxidantes (Shaw et al., 2018). De um modo geral, o plasma ao interagir com líquidos ou soluções permite a geração de peróxido de hidrogênio, nitritos, nitratos e outros, que tem capacidade de induzir a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERON) células (Matějka et al., 2023; Shaji et al., 2023; Takeda et al., 2017; Tampieri et al., 2023; Wong et al., 2023). Esta tecnologia tem sido recentemente avaliada para aplicações médicas com resultados muito promissores. Neste caso, não existe aplicação direta do LTAPP no sítio clínico, mas somente do líquido tratado, o que traz inúmeras vantagens na aplicação clínica e abre novas possibilidades para o uso do plasma. Bhatt et al., 2018 reportaram o sucesso da utilização de solução ativada com plasma sobre biofilmes de MRSA, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, sugerindo a sua aplicação em terapia lock, em casos de infecções de catéteres.

Outra propriedade marcante do plasma e determinante para o tratamento de infecções é a capacidade em causar dano à célula procariótica mantendo a integridade de células eucarióticas (Dobrynin et al., 2009; Faramarzi et al., 2021; Lunov et al., 2017; Mai-Prochnow et al., 2016, 2015; Weltmann, Von Woedtke, 2017). Essa propriedade é baseada no metabolismo celular para espécies reativas de oxigênio (ERO) que não é igual para ambas uma vez que eucariotos possuem proteção para espécies como O_2^- , por exemplo, enquanto células procarióticas não possuem proteção ou tem baixa resistência (Dobrynin et al., 2009; Faramarzi et al., 2021; Gorbanev et al., 2016; Malyavko et al., 2020; Xu et al., 2015). A diferença de tamanho entre as células também oferece seletividade visto que células bacterianas oferecem maior superfície em relação ao volume para ação do plasma, estando na ordem de 0,2 a 10 μm , enquanto a célula eucariótica apresenta tamanho variável de 10 a 100 μm (Dobrynin et al., 2009; Gorbanev et al., 2016; Kong et al., 2009; Xu et al., 2015).

A incidência de infecções fúngicas tem aumentado significativamente nas últimas décadas (Mount et al., 2018). Em particular, as infecções por leveduras do gênero *Candida* são consideradas um problema relevante nas áreas médicas (Dadar et al., 2018). Essas infecções podem ser superficiais e sistêmicas (Williams et al., 2013). As infecções sistêmicas ocorrem quando o fungo supera a barreira epitelial e atinge a circulação sanguínea, causando a candidemia (Gow et al., 2012), a qual apresenta taxas de mortalidade de 30% (Keighley et al., 2023) até 50% (Omrani et al., 2014).

As candidoses bucais apresentam grande relevância pois ocorrem em altas prevalências dentre pacientes imunocomprometidos (Low et al., 2016; Ouchi et al., 2024) e são consideradas como porta de entrada para infecções sistêmicas (Williams et al., 2013). Casos refratários aos tratamentos convencionais têm sido relatados na literatura com prevalência crescente (Shah et al., 2017; Wang et al.,

2016).

A ocorrência crescente de resistência antifúngica, a toxicidade e interação com outras drogas, além do pequeno espectro de ação dos fármacos antifúngicos existentes, limita o número de alternativas terapêuticas para a candidose (Feng et al., 2023; Iyer et al., n.d.; Jabeen et al., 2023; Lewis, Graybill, 2008; Lin et al., 2023; Zhang et al., 2024). Neste contexto, a tecnologia do plasma é promissora no tratamento de infecções fúngicas devido às limitações clínicas associadas aos antifúngicos, como toxicidade elevada e resistência das cepas aos antifúngicos (Feng et al., 2023; Wu et al., 2023).

Além disso, a maior resistência da forma de biofilme em relação às células planctônicas tem sido alvo de estudos (Fan et al., 2022; Zhang et al., 2024). Relata-se que os biofilmes podem ser até 1.000 vezes mais resistentes do que no estado planctônico (Mai-Prochnow et al., 2015). Desta forma, a busca por novas formas de tratamento é urgentemente necessária (Feng et al., 2023; Keighley et al., 2023; Wu et al., 2023)

O efeito inibitório do jato de plasma sobre *Candida albicans* foi relatado em estudos anteriores (Aparecida Delben et al., 2016b; Kostov et al., 2015; Nishime et al., 2017; Doria et al., 2015; Rovetta-Nogueira et al., 2023; Chiodi Borges et al., 2017; He et al., 2020; Schnabel et al., 2020; Wanachantararak et al., 2019).. Borges et al., 2017 relataram efeito do jato de plasma de hélio sobre biofilmes de *C. albicans* em aplicações a partir de 5 min. Efeitos promissores sobre a aderência e capacidade de filamentação também foram observados. A utilização do jato de plasma em modelo de candidose oral murino, mostrou efeito positivo devido às ações anti-inflamatórias e antifúngicas, com baixa toxicidade aos tecidos (Borges et al., 2018).

Segundo Liu et al., 2020 e Ma et al., 2020, uma das maiores vantagens dos LAPs em relação à aplicação direta do plasma sobre tecidos biológicos, por

exemplo, é a segurança, uma vez que, os perigos do campo elétrico, partículas altamente carregadas e danos térmicos aos tecidos podem ser evitados, apenas utilizando a ação das espécies reativas produzidas (Ercan et al., 2013; Liu et al., 2020b; Zhou et al., 2018).

Apesar das vantagens atribuídas a aplicação dos líquidos ativados com plasma, até o presente momento poucos estudos foram realizados com *Candida albicans* (Ercan et al., 2013; Laurita et al., 2015; Miranda et al., 2023a; Sampaio et al., 2022), e dentre os trabalhos diversos autores tiveram dificuldades em encontrar parâmetros antifúngicos efetivos, apenas Laurita et al., 2015 encontrou parâmetros que foram efetivos frente *C. albicans*, utilizando uma fonte de plasma denominada DBD (descarga por barreira dielétrica), o que demonstra que ainda existe um caminho a ser percorrido na padronização de parâmetros físico-químicos uma vez que existem diferente tipos de fontes de plasma.

Assim, o objetivo deste trabalho é estudar os efeitos dessa nova forma de entrega do plasma sobre *C. albicans* como futuro adjuvante no controle de infecções fúngicas.

6 CONCLUSÃO

A água destilada ativada com plasma de argônio, e com a mistura de argônio e ar comprimido apresentaram os melhores efeitos antifúngicos frente células planctônicas de *C. albicans* após 30 min de exposição. Para a solução salina, apenas a ativação por plasma de argônio apresentou resultados antifúngicos frente células planctônicas, após 30 min de exposição.

Em relação aos biofilmes de *C. albicans*, ambos os líquidos ativados com plasma de argônio apresentaram efeito antibiofilme após 30 min de exposição. Os melhores resultados de ação antifúngica foram observados nos grupos de LAPs que produziram maior concentração de peróxido de hidrogênio.

A composição de espécies reativas que apresentou os melhores efeitos antifúngicos para água destilada tratada com plasma de argônio, foi o nitrato em maior concentração, precedido do peróxido de hidrogênio, ácido nítrico, nitrito e ozônio, já para a solução salina tratada com plasma de argônio a composição com maior efetividade foi nitrato em maior concentração, seguido de nitrito, ácido nítrico, peróxido de hidrogênio e ozônio, ressaltando que nos grupos de salina tratado com plasma de ar comprimido e com a mistura dos gases argônio e ar comprimido, não foi detectada a presença de peróxido de hidrogênio.

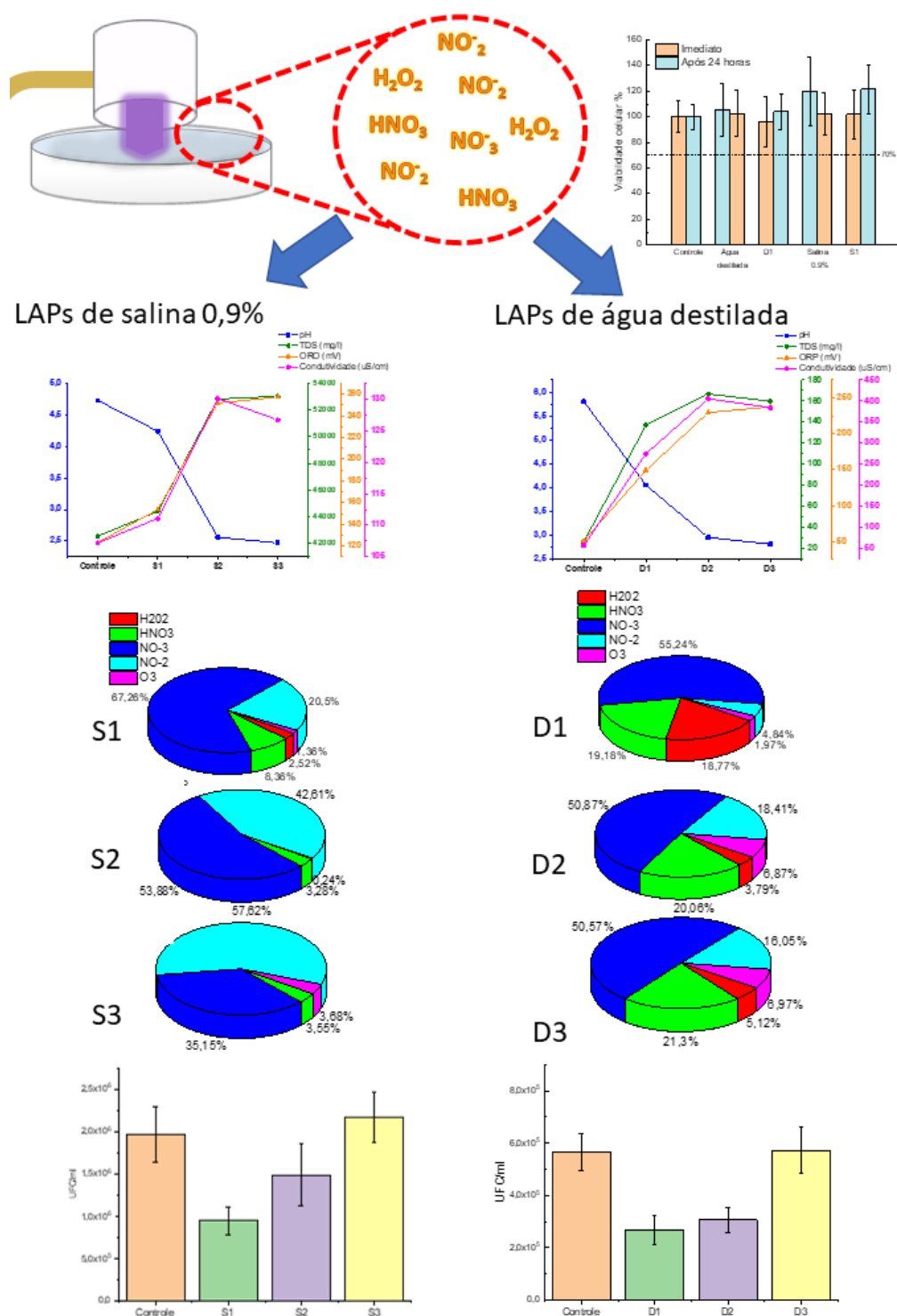
Foi possível determinar condições ideais de produção, indicadores físico-químicos de produção de espécies reativas como pH na faixa de 4 a 4,5, melhor fluxo de gás a uma vazão de 3,0 l/min e a melhor fonte de gás que foi o argônio.

Para a solução salina e água destilada o ORP ideal para início de produção de espécies reativas foi na faixa de 150 mV e condutividade para solução salina na faixa de 110 $\mu\text{S/cm}$, enquanto que para a água destilada os valores de condutividade foram na faixa de 275 $\mu\text{S/cm}$.

Esses resultados associados à baixa toxicidade dos líquidos ativados com

plasma de Argônio abrem um promissor e vasto campo na linha de terapias adjuvantes no combate a infecções causadas por este patógeno.

Figura 18: Graph abstract



Legenda: D1: água destilada ativada com Argônio; D2: água destilada ativada com Argônio e ar

comprimido; D3: água destilada ativada com ar comprimido; CS: salina controle, não ativada; S1: salina ativada com Argônio; S2: salina ativada com Argônio e ar comprimido; S3: salina ativada com ar comprimido.

Fonte: A autora.

REFERÊNCIAS*

Aparecida Delben J, Evelin Zago C, Tyhovych N, Duarte S, Eduardo Vergani C. Effect of atmospheric-pressure cold plasma on pathogenic oral biofilms and in vitro reconstituted oral epithelium. *PLoS One*. 2016b;11(5):1–18. doi: 10.1371/journal.pone.0155427.

Bai F, Ran Y, Zhai S, Xia Y. Cold Atmospheric Plasma: A Promising and Safe Therapeutic Strategy for Atopic Dermatitis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2023; doi: 10.1159/000531967.

Bai Y, Idris Muhammad A, Hu Y, Koseki S, Liao X, Chen S, et al. Inactivation kinetics of *Bacillus cereus* spores by Plasma activated water (PAW). *Food Research International*. 2020;131. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109041.

Bauer G. The synergistic effect between hydrogen peroxide and nitrite, two long-lived molecular species from cold atmospheric plasma, triggers tumor cells to induce their own cell death. *Redox Biol*. 2019;26. doi: 10.1016/j.redox.2019.101291.

Belgacem Z Ben, Carre G, Charpentier E, Le-Bras F, Maho T, Robert E, et al. Innovative non-thermal plasma disinfection process inside sealed bags: Assessment of bactericidal and sporicidal effectiveness in regard to current sterilization norms. *PLoS One*. 2017;12(6). doi: 10.1371/journal.pone.0180183.

Bhatt S, Mehta P, Chen C, Daines DA, Mermel LA, Chen HL, et al. Antimicrobial efficacy and safety of a novel gas plasma-activated catheter lock solution. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(8). doi: 10.1128/AAC.00744-18.

Borges AC, de Moraes Gouvêa Lima G, Mayumi Castaldelli Nishime T, Vidal Lacerda Gontijo A, Kostov KG, Koga-Ito CY. Amplitude-modulated cold atmospheric pressure plasma jet for treatment of oral candidiasis: In vivo study. *PLoS One*. 2018;13(6):1–19. doi: 10.1371/journal.pone.0199832.

Borges AC, Nishime TMC, de Moura Rovetta S, Lima G de MG, Kostov KG, Thim GP, et al. Cold Atmospheric Pressure Plasma Jet Reduces *Trichophyton rubrum* Adherence and Infection Capacity. *Mycopathologia*. 2019;184(5):585–95. doi: 10.1007/s11046-019-00375-2.

Bourke P, Ziuzina D, Han L, Cullen PJ, Gilmore BF. Microbiological interactions with cold plasma. *J Appl Microbiol.* 2017;123(2):308–24. doi: 10.1111/jam.13429.

Chiappim W, Sampaio A da G, Miranda F, Fraga M, Petraconi G, da Silva Sobrinho A, et al. Antimicrobial effect of plasma-activated tap water on staphylococcus aureus, escherichia coli, and Candida albicans. *Water (Switzerland).* 2021a;13(11). doi: 10.3390/w13111480.

Chiappim W, Sampaio A, Miranda F, Petraconi G, da Silva Sobrinho A, Cardoso P, et al. Nebulized plasma-activated water has an effective antimicrobial effect on medically relevant microbial species and maintains its physicochemical properties in tube lengths from 0.1 up to 1.0 m. *Plasma Processes and Polymers.* 2021b;18(11). doi: 10.1002/ppap.202100010.

Chiodi Borges A, Castaldelli Nishime TM, Kostov KG, de Moraes Gouvêa Lima G, Vidal Lacerda Gontijo A, Nóbrega Martins Marchesotti de Carvalho J, et al. Cold atmospheric pressure plasma jet modulates Candida albicans virulence traits. *Clin Plasma Med.* 2017;7–8:9–15. doi: 10.1016/j.cpme.2017.06.002.

Coughlan LM, Cotter PD, Hill C, Alvarez-Ordóñez A. New weapons to fight old enemies: Novel strategies for the (bio)control of bacterial biofilms in the food industry. *Front Microbiol.* 2016;7(OCT). doi: 10.3389/fmicb.2016.01641.

Dadar M, Tiwari R, Karthik K, Chakraborty S, Shahali Y, Dhama K. Candida albicans - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control – An update. *Microb Pathog.* 2018;117:128–38. doi: 10.1016/j.micpath.2018.02.028.

Dascalu A, Besleaga A, Shimizu K, Sirghi L. Activation of Water by Surface DBD Micro Plasma in Atmospheric Air. *Lecture Notes in Networks and Systems*, vol. 53. Springer; 2019. p. 97–104. doi: 10.1007/978-3-319-99834-3_13.

Dobrynin D, Fridman G, Friedman G, Fridman A. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. *New J Phys.* 2009;11. doi: 10.1088/1367-2630/11/11/115020.

Doria ACOC, Sorge C di PC, Santos TB, Brandão J, Gonçalves PAR, Maciel HS, et al. Application of post-discharge region of atmospheric pressure argon

and air plasma jet in the contamination control of candida albicans biofilms. *Revista Brasileira de Engenharia Biomedica*. 2015;31(4):358–62. doi: 10.1590/2446-4740.01215.

Ercan UK, Wang H, Ji H, Fridman G, Brooks AD, Joshi SG. Nonequilibrium plasma-activated antimicrobial solutions are broad-spectrum and retain their efficacies for extended period of time. *Plasma Processes and Polymers*. 2013;10(6):544–55. doi: 10.1002/ppap.201200104.

Fan FM, Liu Y, Liu YQ, Lv RX, Sun W, Ding WJ, et al. Candida albicans biofilms: antifungal resistance, immune evasion, and emerging therapeutic strategies. *Int J Antimicrob Agents*. 2022;60(5–6). doi: 10.1016/j.ijantimicag.2022.106673.

Faramarzi F, Zafari P, Alimohammadi M, Moonesi M, Rafiei A, Bekeschus S. Cold Physical Plasma in Cancer Therapy: Mechanisms, Signaling, and Immunity. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021. doi: 10.1155/2021/9916796.

Feng Y, Lu H, Whiteway M, Jiang Y. Understanding fluconazole tolerance in Candida albicans: implications for effective treatment of candidiasis and combating invasive fungal infections. *J Glob Antimicrob Resist*. 2023;35:314–21. doi: 10.1016/j.jgar.2023.10.019.

Figueira FR, Doria ACOC, Khouri S, Maciel HS, Pessoa RS, Ramos MAR. Effect of Storage Temperature on pH and Conductivity of Reverse Osmosis Water Treated with Atmospheric Plasma. vol. 8. 2018.

Gates D. Plasma: An International Open Access Journal for All of Plasma Science. *Plasma*. 2018;1(1):45–6. doi: 10.3390/plasma1010004.

Girard F, Badets V, Blanc S, Gazeli K, Marlin L, Authier L, et al. Formation of reactive nitrogen species including peroxyxynitrite in physiological buffer exposed to cold atmospheric plasma. *RSC Adv*. 2016;6(82):1–3. doi: 10.1039/c6ra12791fi.

Gorbanev Y, O'Connell D, Chechik V. Non-Thermal Plasma in Contact with Water: The Origin of Species. *Chemistry - A European Journal*. 2016;22(10):3496–505. doi: 10.1002/chem.201503771.

Gow NAR, Van De Veerdonk FL, Brown AJP, Netea MG. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: Discriminating invasion from colonization. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10(2):112–22. doi: 10.1038/nrmicro2711.

Guo D, Liu H, Zhou L, Xie J, He C. Plasma-activated water production and its application in agriculture. *J Sci Food Agric.* 2021;101(12):4891–9. doi: 10.1002/jsfa.11258.

Hadinoto K, Niemira BA, Trujillo FJ. A review on plasma-activated water and its application in the meat industry. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2023a;22(6):4993–5019. doi: 10.1111/1541-4337.13250.

Hadinoto K, Rao NRH, Astorga JB, Zhou R, Biazik J, Zhang T, et al. Hybrid plasma discharges for energy-efficient production of plasma-activated water. *Chemical Engineering Journal.* 2023b;451. doi: 10.1016/j.cej.2022.138643.

Han QY, Wen X, Gao JY, Zhong CS, Ni YY. Application of plasma-activated water in the food industry: A review of recent research developments. *Food Chem.* 2023;405. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.134797.

Hasim S, Coleman JJ. Targeting the fungal cell wall: Current therapies and implications for development of alternative antifungal agents. *Future Med Chem.* 2019;11(8):869–83. doi: 10.4155/fmc-2018-0465.

He M, Duan J, Xu J, Ma M, Chai B, He G, et al. *Candida albicans* biofilm inactivated by cold plasma treatment in vitro and in vivo. *Plasma Processes and Polymers.* 2020;17(4):1–9. doi: 10.1002/ppap.201900068.

Hoffmann C, Berganza C, Zhang J. *Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology.* 2013.

Hoppanová L, Kryštofová S. Nonthermal Plasma Effects on Fungi: Applications, Fungal Responses, and Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2022;2022:11592. doi: 10.3390/ijms.

Hu X, Feng J, Ding T, Lv R. Correlation analysis of reactive oxygen and nitrogen species (RONS) components in plasma activated water (PAW) and its inactivation of *Bacillus cereus* endospore. *Journal of Water Process Engineering.* 2023;56. doi: 10.1016/j.jwpe.2023.104332.

Hu X, Zhang Y, Wu RA, Liao X, Liu D, Cullen PJ, et al. Diagnostic analysis of reactive species in plasma-activated water (PAW): Current advances and outlooks. *J Phys D Appl Phys.* 2022;55(2). doi: 10.1088/1361-6463/ac286a.

Iyer KR, Robbins N, Cowen LE. The role of *Candida albicans* stress response pathways in antifungal tolerance and resistance. *Cell Press.* 2022;25(103953):1–9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.103953>.

Jabeen G, Naz SA, Rangel DEN, Jabeen N, Shafique M, Yasmeen K. In-vitro evaluation of virulence markers and antifungal resistance of clinical *Candida albicans* strains isolated from Karachi, Pakistan. *Fungal Biol.* 2023;127(7–8):1241–9. doi: 10.1016/j.funbio.2023.04.003.

Joshi SG, Paff M, Friedman G, Fridman G, Fridman A, Brooks AD. Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in planktonic form and biofilms: A biocidal efficacy study of nonthermal dielectric-barrier discharge plasma. *Am J Infect Control.* 2010;38(4):293–301. doi: 10.1016/j.ajic.2009.11.002.

Keighley C, Gall M, Halliday CL, Chaw K, Newton P, Sintchenko V, et al. Breakthrough *Candida albicans* bloodstream infection associated with in vivo development of pan-azole resistance related to ERG3 gene deletion. *Pathology.* 2023; doi: 10.1016/j.pathol.2023.09.015.

Kim S, Kim CH. Applications of plasma-activated liquid in the medical field. *Biomedicines.* 2021;9(11). doi: 10.3390/biomedicines9111700.

Koban I, Matthes R, Hübner NO, Welk A, Meisel P, Holtfreter B, et al. Treatment of *Candida albicans* biofilms with low-temperature plasma induced by dielectric barrier discharge and atmospheric pressure plasma jet. *New J Phys.* 2010;12. doi: 10.1088/1367-2630/12/7/073039.

Konchekov EM, Gusein-zade N, Burmistrov DE, Kolik L V., Dorokhov AS, Izmailov AY, et al. Advancements in Plasma Agriculture: A Review of Recent Studies. *Int J Mol Sci.* 2023;24(20). doi: 10.3390/ijms242015093.

Kong MG, Kroesen G, Morfill G, Nosenko T, Shimizu T, Van Dijk J, et al. Plasma medicine: An introductory review. *New J Phys.* 2009;11. doi: 10.1088/1367-2630/11/11/115012.

Kostov KG, Borges AC, Koga-Ito CY, Nishime TMC, Prsyazhnyi V, Honda RY. Inactivation of *Candida albicans* by Cold Atmospheric Pressure Plasma Jet.

IEEE Transactions on Plasma Science. 2015;43(3):770–5. doi: 10.1109/TPS.2014.2360645.

Lamichhane P, Acharya TR, Kaushik N, Nguyen LN, Lim JS, Hessel V, et al. Non-thermal argon plasma jets of various lengths for selective reactive oxygen and nitrogen species production. *J Environ Chem Eng*. 2022;10(3). doi: 10.1016/j.jece.2022.107782.

Laroussi M. Plasma Medicine: A Brief Introduction. *Plasma*. 2018;1(1):47–60. doi: 10.3390/plasma1010005.

Laroussi M. Sterilization of Contaminated matter with an atmospheric pressure plasma. *IEEE TRANSACTIONS ON PLASMA SCIENCE*. 1996;24(3).

Laroussi M, Mendis DA, Rosenberg M. Plasma interaction with microbes You may also like Rationalizing the permeation of polar antibiotics into Gram-negative bacteria. 2003.

Laurita R, Barbieri D, Gherardi M, Colombo V, Lukes P. Chemical analysis of reactive species and antimicrobial activity of water treated by nanosecond pulsed DBD air plasma. *Clin Plasma Med*. 2015;3(2):53–61. doi: 10.1016/j.cpme.2015.10.001.

Lee A, Lin A, Shah K, Singh H, Miller V, Gururaja Rao S. Optimization of non-thermal plasma treatment in an In Vivo model organism. *PLoS One*. 2016;11(8). doi: 10.1371/journal.pone.0160676.

Lewis JS, Graybill JR. Fungicidal versus fungistatic: What's in a word? *Expert Opin Pharmacother*. 2008;9(6):927–35. doi: 10.1517/14656566.9.6.927.

Lin L, Zhuo Y, Dong Q, Yang C, Cheng C, Liu T. Plasma activated Ezhangfeng Cuji as innovative antifungal agent and its inactivation mechanism. *AMB Express*. 2023;13(1). doi: 10.1186/s13568-023-01571-6.

Liu K, Liu ST, Ran CF. The Effect of Air-Water-Plasma-Jet-Activated Water on Penicillium: The Reaction of HNO₂ and H₂O₂ Under Acidic Condition. *Front Phys*. 2020a;8. doi: 10.3389/fphy.2020.00242.

Liu K, Liu ST, Ran CF. The Effect of Air-Water-Plasma-Jet-Activated Water on Penicillium: The Reaction of HNO₂ and H₂O₂ Under Acidic Condition. *Front Phys*. 2020b;8. doi: 10.3389/fphy.2020.00242.

Liu X, Li Y, Zhang R, Huangfu L, Du G, Xiang Q. Inactivation effects and mechanisms of plasma-activated water combined with sodium laureth sulfate (SLES) against *Saccharomyces cerevisiae*. *APPLIED MICROBIAL AND CELL PHYSIOLOGY*. 2021;2855-2865. doi: 10.1007/s00253-021-11227-9/Published.

Low A, Gavriilidis G, Larke N, B-Lajoie MR, Drouin O, Stover J, et al. Incidence of Opportunistic Infections and the Impact of Antiretroviral Therapy among HIV-Infected Adults in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;62(12):1595–603. doi: 10.1093/cid/ciw125.

Lunov O, Zablotskii V, Churpita O, Lunova M, Jirsa M, Dejneka A, et al. Chemically different non-thermal plasmas target distinct cell death pathways. *Sci Rep*. 2017;7(1). doi: 10.1038/s41598-017-00689-5.

Ma M, Zhang Y, Lv Y, Sun F. The key reactive species in the bactericidal process of plasma activated water. *J Phys D Appl Phys*. 2020;53(18). doi: 10.1088/1361-6463/ab703a.

Ma R, Yu S, Tian Y, Wang K, Sun C, Li X, et al. Effect of Non-Thermal Plasma-Activated Water on Fruit Decay and Quality in Postharvest Chinese Bayberries. *Food Bioproc Tech*. 2016;9(11):1825–34. doi: 10.1007/s11947-016-1761-7.

Ma Y, Sun T, Ren K, Min T, Xie X, Wang H, et al. Applications of cold atmospheric plasma in immune-mediated inflammatory diseases via redox homeostasis: evidence and prospects. *Heliyon*. 2023;9(12). doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e22568.

Mai-Prochnow A, Bradbury M, Ostrikov K, Murphy AB. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm response and resistance to cold atmospheric pressure plasma is linked to the redox-active molecule phenazine. *PLoS One*. 2015;10(6). doi: 10.1371/journal.pone.0130373.

Mai-Prochnow A, Clauson M, Hong J, Murphy AB. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Sci Rep*. 2016;6. doi: 10.1038/srep38610.

Malyavko A, Yan D, Wang Q, Klein AL, Patel KC, Sherman JH, et al. Cold atmospheric plasma cancer treatment, direct: Versus indirect approaches. *Mater Adv.* 2020;1(6):1494–505. doi: 10.1039/d0ma00329h.

Matějka F, Galář P, Khun J, Scholtz V, Kůsová K. Mechanisms leading to plasma activated water high in nitrogen oxides. *Phys Scr.* 2023;98(4). doi: 10.1088/1402-4896/acc48e.

Milhan NVM, Chiappim W, Sampaio A da G, da Cruz Vegian MR, Pessoa RS, Koga-ito CY. Applications of Plasma-Activated Water in Dentistry: A Review. *Int J Mol Sci.* 2022;23(8). doi: 10.3390/ijms23084131.

Miranda FS, Tavares VKF, Gomes MP, Neto NFA, Chiappim W, Petraconi G, et al. Physicochemical Characteristics and Antimicrobial Efficacy of Plasma-Activated Water Produced by an Air-Operated Coaxial Dielectric Barrier Discharge Plasma. *Water (Switzerland).* 2023a;15(23). doi: 10.3390/w15234045.

Miranda FS, Tavares VKF, Gomes MP, Neto NFA, Chiappim W, Petraconi G, et al. Physicochemical Characteristics and Antimicrobial Efficacy of Plasma-Activated Water Produced by an Air-Operated Coaxial Dielectric Barrier Discharge Plasma. *Water (Switzerland).* 2023b;15(23). doi: 10.3390/w15234045.

Mohades S, Laroussi M, Maruthamuthu V. Moderate plasma activated media suppresses proliferation and migration of MDCK epithelial cells. *J Phys D Appl Phys.* 2017;50(18). doi: 10.1088/1361-6463/aa678a.

Mohd Nasir N, Lee BK, Yap SS, Thong KL, Yap SL. Cold plasma inactivation of chronic wound bacteria. *Arch Biochem Biophys.* 2016;605:76–85. doi: 10.1016/j.abb.2016.03.033.

Mount HO, Revie NM, Todd RT, Anstett K, Collins C, Costanzo M, et al. Global analysis of genetic circuitry and adaptive mechanisms enabling resistance to the azole antifungal drugs. *PLoS Genet.* 2018;14(4). doi: 10.1371/journal.pgen.1007319.

Narasimhan SL, Salvi D, Schaffner DW, Karwe M V., Tan J. Efficacy of cold plasma-activated water as an environmentally friendly sanitizer in egg washing. *Poult Sci.* 2023;102(10). doi: 10.1016/j.psj.2023.102893.

Neyts EC, Brault P. Molecular Dynamics Simulations for Plasma-Surface Interactions. *Plasma Processes and Polymers*. 2017;14(1–2). doi: 10.1002/ppap.201600145.

Nishime TMC, Borges AC, Koga-Ito CY, Machida M, Hein LRO, Kostov KG. Non-thermal atmospheric pressure plasma jet applied to inactivation of different microorganisms. *Surf Coat Technol*. 2017;312:19–24. doi: 10.1016/j.surfcoat.2016.07.076.

Omrani AS, FRCPath F, Makkawy EA, Baig K, Baredhwan AA, Almuthree SA, et al. Ten-year review of invasive *Candida* infections in a tertiary care center in Saudi Arabia OPEN ACCESS. vol. 35. 2014.

Ouchi C, Hasebe A, Sakata K ichiro, Sato J, Yamazaki Y, Ohga N, et al. Genotypes and virulence-related activities of *Candida albicans* derived from oral cavity of patients in Hokkaido. *Arch Oral Biol*. 2024;157. doi: 10.1016/j.archoralbio.2023.105827.

Pang B, Liu Z, Wang S, Gao Y, Qi M, Xu D, et al. Alkaline plasma-activated water (PAW) as an innovative therapeutic avenue for cancer treatment. *Appl Phys Lett*. 2022;121(14). doi: 10.1063/5.0107906.

Reema, Khanikar RR, Bailung H, Sankaranarayanan K. Review of the cold atmospheric plasma technology application in food, disinfection, and textiles: A way forward for achieving circular economy. *Front Phys*. 2022;10. doi: 10.3389/fphy.2022.942952.

Reiazi R, Akbari ME, Norozi A, Etedadialiabadi M. Application of cold atmospheric plasma (CAP) in cancer therapy: A review. *Int J Cancer Manag*. 2017;10 10(3 3). doi: 10.5812/ijcp.8728.

Rothwell JG, Alam D, Carter DA, Soltani B, McConchie R, Zhou R, et al. The antimicrobial efficacy of plasma-activated water against *Listeria* and *E. coli* is modulated by reactor design and water composition. *J Appl Microbiol*. 2022;132(4):2490–500. doi: 10.1111/jam.15429.

Rovetta-Nogueira S de M, Borges AC, Oliveira Filho M de, Nishime TMC, Hein LR de O, Kostov KG, et al. Helium Cold Atmospheric Plasma Causes Morphological and Biochemical Alterations in *Candida albicans* Cells. *Molecules*. 2023;28(23). doi: 10.3390/molecules28237919.

- Sampaio A da G, Chiappim W, Milhan NVM, Botan Neto B, Pessoa R, Koga-Ito CY. Effect of the pH on the Antibacterial Potential and Cytotoxicity of Different Plasma-Activated Liquids. *Int J Mol Sci.* 2022;23(22). doi: 10.3390/ijms232213893.
- Schnabel U, Yarova K, Zessin B, Stachowiak J, Ehlbeck J. The combination of plasma-processed air (PPA) and plasma-treated water (PTW) causes synergistic inactivation of *Candida albicans* SC5314. *Applied Sciences (Switzerland).* 2020;10(9). doi: 10.3390/app10093303.
- Serrano-Fujarte I, López-Romero E, Cuéllar-Cruz M. Moonlight-like proteins of the cell wall protect sessile cells of *Candida* from oxidative stress. *Microb Pathog.* 2016;90:22–33. doi: 10.1016/j.micpath.2015.10.001.
- Shah N, Ray JG, Kundu S, Sardana D. Surgical management of chronic hyperplastic candidiasis refractory to systemic antifungal treatment. *J Lab Physicians.* 2017;9(02):136–9. doi: 10.4103/0974-2727.199622.
- Shaji M, Rabinovich A, Surace M, Sales C, Fridman A. Physical Properties of Plasma-Activated Water. *Plasma.* 2023;6(1):45–57. doi: 10.3390/plasma6010005.
- Shaw P, Kumar N, Kwak HS, Park JH, Uhm HS, Bogaerts A, et al. Bacterial inactivation by plasma treated water enhanced by reactive nitrogen species. *Sci Rep.* 2018;8(1). doi: 10.1038/s41598-018-29549-6.
- Szabó C, Ischiropoulos H, Radi R. Peroxynitrite: Biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* 2007;6(8):662–80. doi: 10.1038/nrd2222.
- Takeda S, Yamada S, Hattori N, Nakamura K, Tanaka H, Kajiyama H, et al. Intraperitoneal Administration of Plasma-Activated Medium: Proposal of a Novel Treatment Option for Peritoneal Metastasis From Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2017;1188–94. doi: 10.1245/s10434-016-5759-1.
- Tampieri F, Gorbanev Y, Sardella E. Plasma-treated liquids in medicine: Let's get chemical. *Plasma Processes and Polymers.* 2023;20(9). doi: 10.1002/ppap.202300077.
- Thirumdas R, Kothakota A, Annapure U, Siliveru K, Blundell R, Gatt R, et al. Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties,

applications in food and agriculture. *Trends Food Sci Technol*. 2018;77:21–31. doi: 10.1016/j.tifs.2018.05.007.

Traylor MJ, Pavlovich MJ, Karim S, Hait P, Sakiyama Y, Clark DS, et al. Long-term antibacterial efficacy of air plasma-activated water. *J Phys D Appl Phys*. 2011;44(47). doi: 10.1088/0022-3727/44/47/472001.

Tsoukou E, Bourke P, Boehm D. Temperature stability and effectiveness of plasma-activated liquids over an 18 months period. *Water (Switzerland)*. 2020;12(11):1–18. doi: 10.3390/w12113021.

Tsoukou E, Delit M, Treint L, Bourke P, Boehm D. Distinct chemistries define the diverse biological effects of plasma activated water generated with spark and glow plasma discharges. *Applied Sciences (Switzerland)*. 2021;11(3):1–18. doi: 10.3390/app11031178.

Vlad IE, Martin C, Toth AR, Papp J, Anghel SD. BACTERIAL INHIBITION EFFECT OF PLASMA ACTIVATED WATER. vol. 71. 2019a.

Vlad IE, Martin C, Toth AR, Papp J, Anghel SD. BACTERIAL INHIBITION EFFECT OF PLASMA ACTIVATED WATER. vol. 71. 2019b.

Wanachantararak P, Suanpoot P, Nisoa M. Inhibitory activity of cold atmospheric plasma on candida albicans. *Walailak J Sci Technol*. 2019;16(6):401–8. doi: 10.48048/wjst.2019.4811.

Wang GM, Sun PP, Pan H, Ye GP, Sun K, Zhang J, et al. Inactivation of *Candida albicans* Biofilms on Polymethyl Methacrylate and Enhancement of the Drug Susceptibility by Cold Ar/O₂ Plasma Jet. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 2016;36(2):383–96. doi: 10.1007/s11090-015-9656-3.

Weltmann KD, Von Woedtke T. Plasma medicine - Current state of research and medical application. *Plasma Phys Control Fusion*. 2017;59(1). doi: 10.1088/0741-3335/59/1/014031.

Wertheimer MR, Coulombe S. Plasma Medicine (Wertheimer/Coulombe). *Physics in Canada*. 2012;68(4):489–192.

Wiegand C, Fink S, Hipler U-C, Beier O, Horn K, Pfuch A, et al. Cold atmospheric pressure plasmas exhibit antimicrobial properties against critical

bacteria and yeast species. *J Wound Care*. 2017;26(8):462–8. doi: 10.12968/jowc.2017.26.8.462.

Williams DW, Jordan RPC, Wei X-Q, Alves CT, Wise MP, Wilson MJ, et al. Interactions of *Candida albicans* with host epithelial surfaces. *J Oral Microbiol*. 2013;5(1):22434. doi: 10.3402/jom.v5i0.22434.

Wong KS, Chew NSL, Low M, Tan MK. Plasma-Activated Water: Physicochemical Properties, Generation Techniques, and Applications. *Processes*. 2023;11(7). doi: 10.3390/pr11072213.

Wu Y, Chen Y, Lu H, Ying C. Miltefosine exhibits fungicidal activity through oxidative stress generation and Aif1 activation in *Candida albicans*. *Int J Antimicrob Agents*. 2023;62(1). doi: 10.1016/j.ijantimicag.2023.106819.

Xia B, Vyas HKN, Zhou R, Zhang T, Hong J, Rothwell JG, et al. The importance of superoxide anion for *Escherichia coli* biofilm removal using plasma-activated water. *J Environ Chem Eng*. 2023;11(3). doi: 10.1016/j.jece.2023.109977.

Xu D, Liu D, Wang B, Chen C, Chen Z, Li D, et al. In situ OH generation from O₂-and H₂O₂ plays a critical role in plasma-induced cell death. *PLoS One*. 2015;10(6). doi: 10.1371/journal.pone.0128205.

Xu H, Fang C, Huang Q. Achieving improved efficiency for removal of aflatoxin B₁ by combination use of cold atmospheric-pressure plasma and plasma-activated water. *Journal of Water Process Engineering*. 2023;54. doi: 10.1016/j.jwpe.2023.104004.

Xu Y, Tian Y, Ma R, Liu Q, Zhang J. Effect of plasma activated water on the postharvest quality of button mushrooms, *Agaricus bisporus*. *Food Chem*. 2016;197:436–44. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.144.

Yang L, Niyazi G, Qi Y, Yao Z, Huang L, Wang Z, et al. Plasma-activated saline promotes antibiotic treatment of systemic methicillin-resistant staphylococcus aureus infection. *Antibiotics*. 2021;10(8). doi: 10.3390/antibiotics10081018.

Zhang Q, Zhang J, Zhang Y, Sui Y, Du Y, Yang L, et al. Antifungal and anti-biofilm activities of patchouli alcohol against *Candida albicans*. *International Journal of Medical Microbiology*. 2024;314. doi: 10.1016/j.ijmm.2023.151596.

Zhao YM, Patange A, Sun DW, Tiwari B. Plasma-activated water: Physicochemical properties, microbial inactivation mechanisms, factors influencing antimicrobial effectiveness, and applications in the food industry. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2020;19(6):3951–79. doi: 10.1111/1541-4337.12644.

Zhou Renwu, Zhou Rusen, Prasad K, Fang Z, Speight R, Bazaka K, et al. Cold atmospheric plasma activated water as a prospective disinfectant: The crucial role of peroxy nitrite. *Green Chemistry.* 2018;20(23):5276–84. doi: 10.1039/c8gc02800a.