

低温等离子体对铜绿假单胞菌毒力因子的作用研究

张佳丽¹, 周明^{1,2}, 张孜孜¹, 刘杨晓雪¹, 赵天舒¹, 耿雨涵¹, 王刚¹, 黄丽萍¹

¹解放军总医院第一医学中心康复医学科, 北京 100853; ²解放军医学院, 北京 100853

摘要:背景 毒力因子的清除是铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)感染治疗的棘手问题。低温等离子体(low temperature plasma, LTP)作为微生物灭活常用物理技术, 对毒力因子的作用相关报道较少。目的 在离体环境下观察LTP对PA生物膜、毒素等毒力因子的作用规律, 分析相关机制, 并与医用紫外线(ultraviolet, UV)临床疗效进行对比。方法 将PA菌株解冻后行一定浓度的菌悬液配制和体外生物膜模型构建, 随机分为LTP处理组和UV处理组。同时, LTP组根据0 min/5 min/10 min/15 min/20 min等照射梯度进行亚分组。平板计数法对生物膜PA进行计数; 结晶紫和刚果红染色分别进行PA生物膜、弹性蛋白酶定量; H₂DCFDA荧光染色法检测溶液活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平; pH计测量PA溶液pH。结果 随着LTP处理时间的增加, 平板计数结果显示, 生物膜PA的数量下降($P < 0.001$), LTP 5 min生物膜PA菌落数量低于UV组($P < 0.001$); 结晶紫和刚果红染色结果显示, 生物被膜和弹性蛋白形成量下降($P < 0.001$), LTP 10 min时PA生物膜形成低于UV组($P = 0.005$), LTP 5 min弹性蛋白酶含量低于UV组($P = 0.049$); 微环境特征结果显示, 胞内ROS水平上升、溶液pH水平下降($P < 0.001$), LTP 5 min胞内ROS水平高于UV组($P = 0.002$), 溶液pH水平低于UV组($P = 0.034$)。结论 LTP可能通过诱导PA所在微环境的改变从而抑制其生物膜、毒素等毒力因子生成。

关键词:低温等离子体; 铜绿假单胞菌; 生物膜; 毒素; 毒力因子

中图分类号: R493

文献标志码: A

文章编号: 2095-5227(2025)02-0173-06

DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.24052805

引用本文: 张佳丽, 周明, 张孜孜, 等. 低温等离子体对铜绿假单胞菌毒力因子的作用研究 [J]. 解放军医学院学报, 2025, 46 (2): 173-178.

Effects of low temperature plasma on virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*

ZHANG Jiali¹, ZHOU Ming^{1,2}, ZHANG Gongzi¹, LIU Yangxiaoxue¹, ZHAO Tianshu¹, GENG Yuhan¹, WANG Gang¹, HUANG Liping¹

¹Department of Rehabilitation Medicine, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ²Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China

Corresponding author: HUANG Liping. Email: ping-online@163.com

Abstract: Background The elimination of virulence factor is a difficult problem in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* (PA) infection. Low temperature plasma (LTP) as a physical therapy technique, is commonly used for inactivation of microorganisms, however, its effects on virulence factors have not been reported. **Objective** To observe the effect of LTP on PA virulence factors in vitro and explore the related mechanisms, and compare the clinical efficacy with medical ultraviolet (UV). **Methods** The thawed PA was prepared with a certain concentration of bacterial suspension and constructed biofilm models in vitro, which were randomly divided into LTP group and UV treatment group. Meanwhile, the LTP group was subgrouped according to the irradiation gradient of 0 min/5 min/10 min/15 min/20 min. The model of PA biofilm was counted using plate counting method. The biofilm and elastase were quantified using crystal violet and Congo red staining. The levels of reactive oxygen species (ROS) were detected using H₂DCFDA fluorescent staining and pH was recorded by pH meter. **Results** Plate counting showed that the biofilm PA decreased with the increase of low temperature plasma exposure time ($P < 0.001$). Compared with UV, the biofilm PA treated with LTP for 5 min was lower ($P < 0.001$). Crystal violet staining and Congo red staining showed that the biofilm formation and elastase secretion decreased with the increase of low temperature plasma exposure time, and there were statistically significant differences among groups ($P < 0.001$). Compared with UV, the formation of PA biofilm treated with LTP for 10 min was lower ($P = 0.005$), and the secretion of elastase treated with LTP for 5 min was lower ($P = 0.049$). Microenvironment characteristics showed that the intracellular ROS increased and the solution pH decreased with the increase of low temperature plasma exposure time, and there were statistically significant differences among groups ($P < 0.001$). Compared with UV, intracellular ROS was higher ($P = 0.002$) and

收稿日期: 2024-05-28

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFC2412004)

第一作者: 张佳丽, 硕士。Email: 13611184052@163.com

通信作者: 黄丽萍, 博士, 主任医师。Email: ping-online@163.com

pH was lower after LTP exposure for 5 min ($P=0.034$). **Conclusion** LTP can inhibit the formation of PA biofilm and elastase by changing the microenvironment which PA is located.

Keywords: low temperature plasma; pseudomonas aeruginosa; biofilm; toxin; virulence factor

Cited as: Zhang JL, Zhou M, Zhang GZ, et al. Effects of low temperature plasma on virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2025, 46(2): 173-178.

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)是一种适应性和多样性极高的微生物,是引起人类机会性感染最主要的机会致病菌^[1]。感染后容易诱发机体剧烈炎症反应,加重患者病情,甚至导致患者死亡^[2-3]。PA 临床治疗难度较大,给患者带来沉重的心理及经济负担^[4]。PA 的致病性主要源于生物膜、弹性蛋白酶、外毒素 A 等毒力因子。近年来,如何实现 PA 毒力因子的清除是学术界关注的热点,也是 PA 感染治疗的靶点。目前临床上仍以抗生素治疗为主,但不乏耐药性增强的不良事件发生。因此迫切寻找一种能够安全有效防治 PA 毒力因子感染的方法。

低温等离子体(low temperature plasma, LTP)是自然界中继固态、液态和气态后物质存在的第 4 种状态,是由带电离子、自由电子、自由基、激发态粒子等共同组成的一种电中性且具有较高能量的离子化气体^[5]。凭借其无创、操作简便、见效快、经济、高性能等优点被广泛运用于皮肤愈合、微生物灭活、抗生素等生物医学领域^[6-9]。但 PA 生物膜、毒素等毒力因子作为 PA 临床感染治疗的靶点和难点^[10-14],低温等离子体对其作用尚不明确。本研究以铜绿假单胞菌生物膜模式菌株作为研究对象,观察 LTP 对 PA 毒力因子的作用规律,探究其相关机制,为临床 PA 相关感染疾病防治和药物研发靶点提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验菌株:本实验选取铜绿假单胞菌作为研究对象,该菌种购于北纳生物公司,菌株编号为 BNCC360085。具体信息查询 https://www.bncc.com/pro/p2/8/p_360085.html。

实验仪器:低温等离子体(大连理工大学,HL-600A1);医用紫外线治疗仪(君德医疗有限公司,JD-3300A);酶标仪(美国赛默飞,Fluoroskan FL);荧光光谱仪(尼康,A1R MP+);刚果红试剂(美国赛默飞); Na_2HPO_4 试剂(万信创达科技有限公司);营养肉汤(nutrient broth, NB)培养基和营养琼脂平板(nutrient agar, NA)培养基均为实

验室自配。

1.2 菌悬液配制

将甘油封存的 PA 菌株从 -80°C 冰箱取出后解冻,吸取 150 μL 菌液接种于含有 NB 液体培养基的试管中,将试管放置于参数设置为 200 r/min, 37°C 摇床内过夜培养。次日接种环蘸取菌液接种至 NA,将平板置于 37°C 恒温箱过夜培养后 4°C 保存。传代 2 次后 PA 接种于含有 NB 培养基的试管,酶标仪在 600 nm 处测定菌液的光密度(optical density, OD)值为 0.75 左右(据此判断细菌是否处于对数生长末期阶段)^[15]。将菌液分装至 1 mL 离心管中,8 000 r/min 离心 8 min,弃上清,将 1 mL 细菌沉淀与 12 mL 的无菌水重悬,最终获得浓度为 1×10^7 CFU/mL 的菌悬液备用。

1.3 处理及分组

菌悬液处理、分组:将 PA 菌悬液随机分为两组。(1)低温等离子体组:取上述配制的菌悬液 12 mL,倒入直径为 60 mm 的培养皿中,将培养皿搁置在载物台,使菌悬液样品的液面与低温等离子体发生器喷头表面的作用距离为 8 cm,并按照不同照射梯度将其设为 0 min/5 min/10 min/15 min/20 min 低温等离子体组(低温等离子体作用 0 min 视为阴性对照组);(2)医用紫外线组:紫外线剂量为 $60\text{ kJ}/\text{cm}^2$ (短波),作用时间 5 s;上述实验重复 3 次。

生物膜模型处理、分组:将制备完成的生物膜模型随机分为两组。(1)低温等离子体组:按照不同照射梯度将其设为 0 min/5 min/10 min/15 min/20 min 低温等离子体组;(2)医用紫外线组:紫外线剂量为 $60\text{ kJ}/\text{cm}^2$ (短波),作用时间 5 s;上述实验重复 3 次。

1.4 杀菌效果评价

过夜培养的菌悬液浓度稀释为 1×10^7 CFU/mL,于 24 孔板中建立 PA 生物被膜模型。将硼硅酸盐盖玻片放入 24 孔板,稀释后的菌悬液与 NB 培养基以 1:100 混合滴在硼硅酸盐盖玻片上, 37°C 下培养 24 h。0.9% 氯化钠注射液轻轻冲洗去除浮游细菌。将长有 PA 生物膜的盖玻片进行 37°C 、15 min 干燥处理防止生物膜表面残留多余水分。LTP 和 UV 照

射后的盖玻片置于无菌水中进行超声分散处理。参照GB4789.2-2016《食品安全国家标准食品微生物检验菌落总数测定》进行生物膜PA菌落计数。取1 mL样品,进行10倍系列浓度梯度稀释,取100 mL接种至平板。选取平板计数30~300作为统计依据,菌落计数单位为CFU/mL。

1.5 生物被膜定量

在35 mm的培养皿中加入2 mL的液体培养基并接种 1×10^6 细菌,LTP和UV处理后静置培养24 h,倒掉培养基,PBS缓冲液冲洗培养皿2次以去除残留培养液及游离细菌。使用1%结晶紫室温染色15 min;染色完毕倒掉结晶紫染液,PBS缓冲液冲洗3次,2 mL 95%无水乙醇溶解培养皿黏附PA生物膜及细菌,充分混匀后分光光度计595 nm测吸光值。

1.6 弹性蛋白酶定量

取LTP和UV处理后的菌悬液各100 μ L放入离心管,加入10 mg刚果红和900 μ L Na_2HPO_4 (pH=7)溶液,37°C震荡4 h后离心。离心后取上清液200 μ L接种至96孔板,酶标仪495 nm处测定吸光值^[16]。

1.7 用DCFH-DA(2,7-Dichlorodi-hydrofluorescein diacetate)探针法检测胞内活性氧水平

采用2',7'-二氯荧光素二乙酸酯,检测LTP和UV处理过程后细菌细胞内产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)。LTP和UV处理菌液后,在菌液中加入1 mL的10 mmol/L $\text{H}_2\text{DCF-DA}$ 。并在37°C避光孵育25 min。弃除上清液,PBS反复冲洗3次。接着用荧光光谱仪在激发波长488 nm、发射波长为535 nm下测量荧光强度值,上述实验重复3次^[17]。

1.8 检测两组菌悬液的pH水平

经过LTP和UV处理后的菌悬液,使用pH计对其pH进行即时检测。并进行3次独立重复实验。

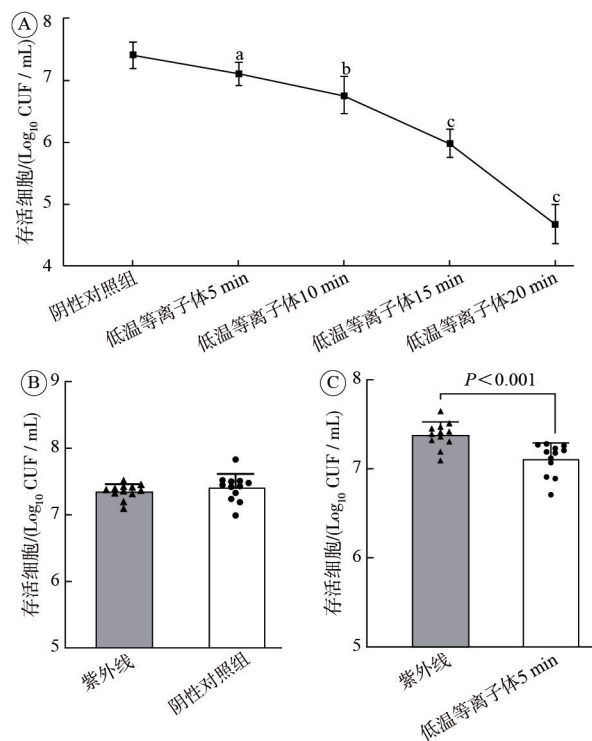
1.9 统计学分析

采用SPSS 22.0软件进行统计学分析。观察指标均为计量资料。多组间比较采用单因素方差分析,若存在统计学差异,进行事后多重比较。采用Shapiro-Wilk检验对指标进行正态性检验。符合正态分布或近似正态分布的观察指标,组间比较采用独立样本 t 检验;不符合正态分布的观察指标,组间比较采用Mann-Whitney U 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生物膜PA存活情况

平板计数结果显示,原始生物膜PA菌落数 $7.41 \pm 0.12 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$,随着LTP处理时间的增加,生物膜PA的数量呈下降趋势,组间差异有统计学意义($P < 0.001$)。LTP 5 min、LTP 10 min、LTP 15 min、LTP 20 min菌落数低于阴性对照组(7.41 ± 0.12 vs 7.11 ± 0.15 , $P = 0.039$; 7.41 ± 0.12 vs 6.76 ± 0.13 , $P = 0.004$; 7.41 ± 0.12 vs 5.99 ± 0.13 , $P = 0.001$; 7.41 ± 0.12 vs 4.69 ± 0.11 , $P < 0.001$),差异有统计学意义,见图1A。提示LTP对生物膜PA的灭活效果与处理时间相关。UV组生物膜PA菌落数 $7.38 \pm 0.13 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$,与阴性对照组菌落数相比未见显著减少($P > 0.05$),见图1B。研究发现,LTP 5 min的菌落数低于UV组,差异有统计学意义(7.38 ± 0.13 vs 7.11 ± 0.15 , $P < 0.001$)。见图1C。提示LTP对生物膜PA的灭活效果优于UV。



A: 低温等离子体不同暴露时间生物膜PA菌落数变化趋势,阴性对照组表示未处理组(^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$, vs 阴性对照组); B: 医用紫外线与阴性对照组生物膜PA菌落数比较; C: 医用紫外线与低温等离子体处理5 min时生物膜PA菌落数比较。UV代表医用紫外线组,LTP代表低温等离子体组。

图1 低温等离子体和医用紫外线对生物膜PA的灭活效果
Fig. 1 Inactivation effect of low temperature plasma and UV on biofilm PA

2.2 生物被膜形成

与未接种PA菌液组相比,接种PA菌液后LTP组生物被膜形成量增加(0.079 ± 0.010 vs 0.049 ± 0.009 , $P<0.001$)。UV组生物被膜形成量增加(0.081 ± 0.007 vs 0.049 ± 0.009 , $P<0.001$);随着LTP处理时间的增加,生物被膜形成总量呈下降趋势,差异有统计学意义($P<0.001$)。提示LTP能够抑制PA生物膜的形成,并且与处理时间有关,见图2A。UV处理后PA生物被膜总量为 0.075 ± 0.012 ,与阴性对照组相比未出现显著减少($P>0.05$),见图2B。与UV组相比,LTP 5 min生物被膜总量低于UV组,LTP 10 min生物被膜形成总量低于UV组,差异有统计学意义(0.075 ± 0.012 vs 0.063 ± 0.014 , $P=0.005$),见图2C。

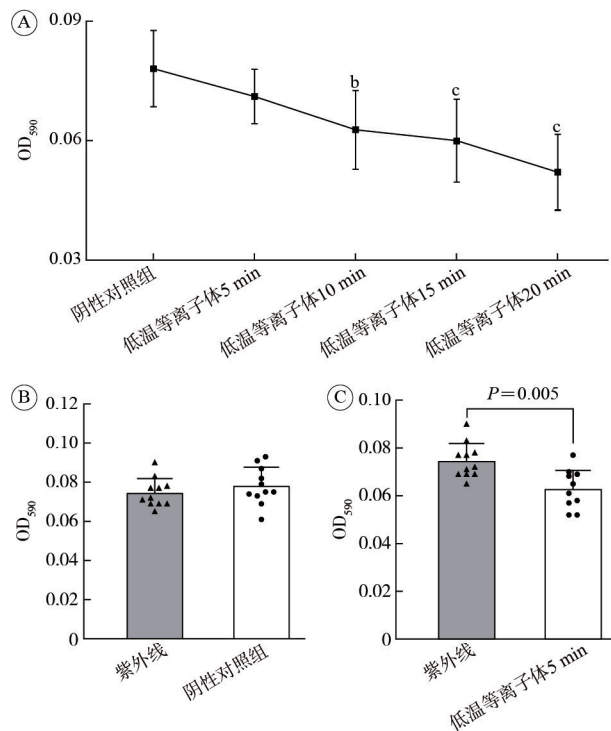


图2 低温等离子体和医用紫外线对PA生物被膜形成的影响
Fig. 2 Effect of low temperature plasma and UV on the formation of PA biofilm

2.3 弹性蛋白酶形成

刚果红染色定量结果显示,随着LTP处理时间的增加,PA生物被膜形成总量呈下降趋势,差异有统计学意义($P<0.001$),见图3A。提示LTP能够抑制PA分泌弹性蛋白酶,处理时间越长,抑制效

应越显著。UV处理后弹性蛋白酶含量与阴性对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$),见图3B。研究结果还显示,LTP 5 min弹性蛋白酶含量低于UV组,差异有统计学意义(1.747 ± 0.003 vs 1.743 ± 0.005 , $P=0.049$),见图3C。

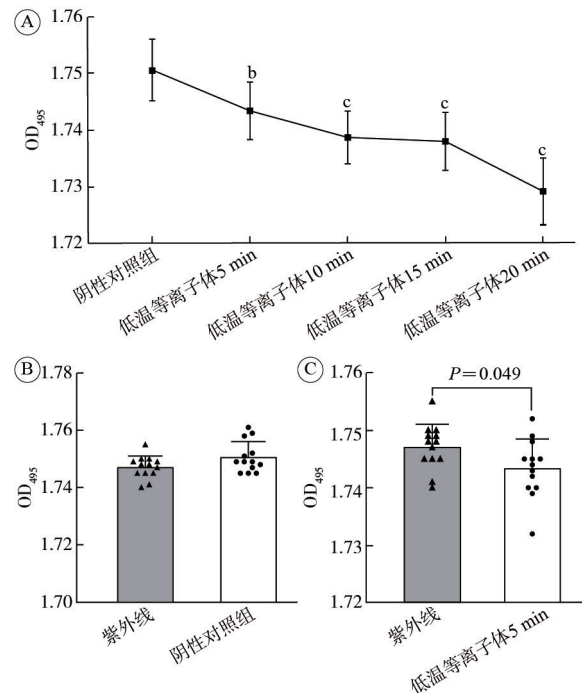


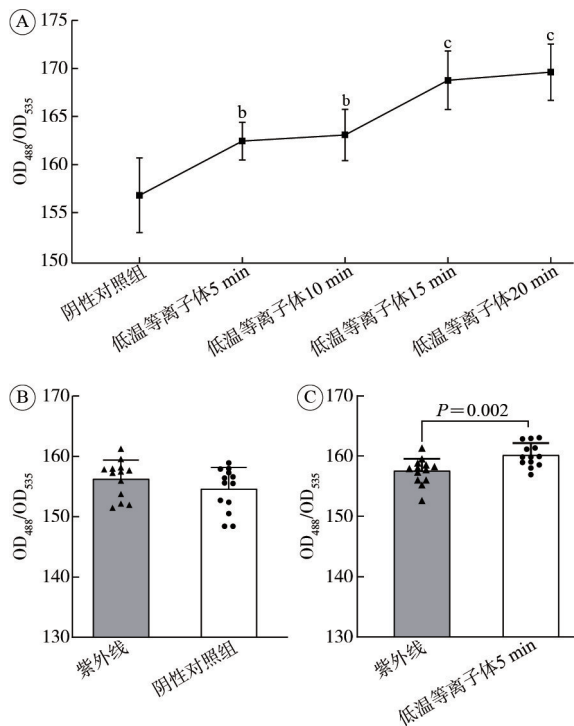
图3 低温等离子体和医用紫外线对PA分泌弹性蛋白酶的影响
Fig. 3 Effect of low temperature plasma and UV on PA secretion of elastase

2.4 胞内ROS水平

胞内ROS水平定量结果显示,随着LTP处理时间的增加,胞内ROS水平呈上升趋势,差异有统计学意义($P<0.001$),见图4A。提示LTP能够诱导PA胞内ROS产生。UV组处理后胞内ROS水平与阴性对照组相比虽然有上升的趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$),见图4B。研究发现,LTP 5 min胞内ROS水平高于UV组(159.7 ± 2.279 vs 162.4 ± 2.237 , $P=0.002$),见图4C。

2.5 溶液pH水平

溶液pH结果显示,未处理前溶液pH 8.06 ± 0.09 ,LTP处理后溶液pH值呈下降趋势。LTP 5 min溶液pH下降至 7.97 ± 0.11 ,与阴性对照组相比显著下降(7.97 ± 0.11 vs 8.06 ± 0.09 , $P=0.043$);随着LTP处理时间的增加,pH呈下降趋势,见



A: 低温等离子体不同暴露时间细菌胞内ROS水平的变化趋势(^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$, vs 阴性对照组); B: 医用紫外线与阴性对照组细菌胞内ROS水平比较; C: 医用紫外线与低温等离子体处理5 min细菌胞内ROS水平比较。UV代表医用紫外线组, LTP代表低温等离子体组。

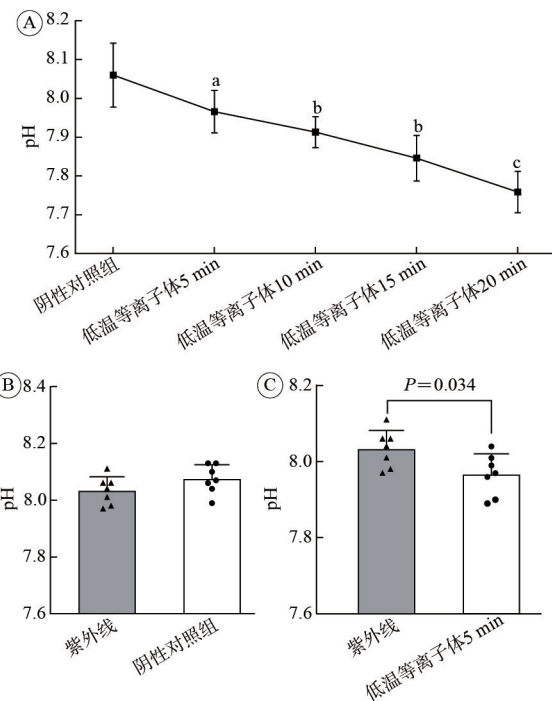
图4 低温等离子体和医用紫外线对PA胞内ROS水平的影响

Fig. 4 Effect of low temperature plasma and UV on intracellular ROS

图5A。提示LTP能够调节溶液pH水平。UV处理后溶液pH 8.03 ± 0.06 , 与阴性对照组相比, 虽然有下降的趋势, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 见图5B。研究发现, LTP 5 min溶液pH水平显著低于UV组, 差异有统计学意义(7.97 ± 0.11 vs 8.03 ± 0.07 , $P = 0.034$), 见图5C。

3 讨论

PA感染机体是一个大量毒力因子参与的过程。毒力因子存在是PA耐药性产生的主要机制。毒力因子的清除是困扰临床医师和患者的主要难题。抗生素是临床抗感染常用治疗方法, 但不乏耐药性问题, 且经济成本较高。紫外线作为杀菌常用物理治疗方法, 目前未见其清除细菌毒力因子的相关报道。近年来相关研究报道, 低温等离子体能够实现多种微生物的高效灭活, 清除细菌生物膜具有一定的潜力, 其治疗能够降低临床感染治疗耐药性问题发生的风险。本研究选取铜绿假单胞菌菌株作为研究对象, 从杀菌效果、毒力因子



A: 低温等离子体不同暴露时间溶液pH水平的变化趋势(^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$, vs 阴性对照组); B: 医用紫外线与阴性对照组溶液pH水平比较; C: 医用紫外线与低温等离子体处理5 min时溶液pH水平比较。UV代表医用紫外线组, LTP代表低温等离子体组。

图5 低温等离子体和医用紫外线对溶液pH的影响

Fig. 5 Effect of low temperature plasma and UV on pH of solution

变化、微环境特征等方面观察低温等离子体对PA的作用规律并探讨相关机制, 为临床PA感染防治及相关药物研发靶点提供理论参考。

生物膜细菌和浮游菌是细菌存在的相对状态。细菌以生物膜的形式存在时, 对外界抗菌剂或抗菌药物的抗性是其浮游状态的1000倍^[18], 而且治疗不当或不彻底均可能导致其抵抗性增加^[19], 加大清除难度^[20-21]。本研究通过体外构建PA生物膜模型, 观察低温等离子体和医用紫外线对生物膜PA的灭活效果, 发现低温等离子体可实现生物膜PA的高效灭活, 并且随着低温等离子体剂量的增加, 细菌的存活数量减少。但紫外线对生物膜PA未显示出明显的灭活效果, 原因可能是紫外线在液体环境中由于穿透能力受限, 无法穿透细菌生物膜实现膜内部细菌的灭活, 不彻底的清除导致膜内细菌对紫外线处理的抵抗性增加, 加大了二次清除的难度。而低温等离子体则凭借其良好的穿透能力可进入PA生物膜内部, 从而实现膜内细菌灭活, 提升了生物膜PA的清除效率。

PA生物膜和毒素作为PA主要的毒力因子, 是导致PA耐药性产生的根本机制。生物膜对于浮游

PA而言是保护伞一样的存在,是PA逃避伤害性刺激的重要堡垒^[22];弹性蛋白酶是PA分泌的重要毒素,可破坏人体上皮细胞^[23]、促进炎症反应^[24]、水解弹性蛋白和IgG,同时降低宿主免疫反应^[16]。抑制或减少上述毒力因子有利于降低细菌对机体的毒性作用,减小感染治疗的难度。本研究运用结晶紫染色和刚果红法分别对PA生物膜和弹性蛋白酶进行定量发现:低温等离子体处理能够减少生物膜和弹性蛋白酶的生成。而紫外线处理前后PA生物膜和弹性蛋白酶生成无明显变化。我们推测出现该现象的可能与低温等离子体诱导的溶液微环境变化密切相关。

相关研究报道,pH的变化能够介导创面组织细菌数量、细菌感染率、增殖活性变化以及PA生物膜形成、毒素分泌等过程。一般来讲,细菌在碱性环境中适宜生存,增殖迅速^[25],而酸性环境则能抑制细菌的代谢活性及增殖能力^[26]。ROS可诱导脂质过氧化生成,使脂质过氧化和脂质过氧化物丙二醛的形成,丙二醛能够结合DNA碱基,干扰DNA的复制和修复,不可逆地损害DNA和蛋白质,导致细胞死亡。本研究通过检测胞内ROS和溶液pH水平观察了溶液微环境的变化,发现低温等离子体能够诱导胞内ROS的增加,调节溶液pH水平。其变化趋势与低温等离子体的处理时间呈现一定的相关性。ROS作为细胞正常代谢副产物^[27],细胞内高水平ROS可发生氧化应激导致细菌细胞的程序性死亡或坏死^[28]。低温等离子体处理过程中大量活性粒子的生成在气液界面发生反应,诱导溶液中大量长效ROS的产生并源源不断作用于细菌,增加胞内ROS水平,导致溶液酸碱度的改变^[15]。过量ROS作用于PA生物膜细菌细胞的核酸、蛋白质、脂质等成分导致变性坏死的发生,加大了PA的清除效率;同时,溶液酸度增加能够有效抑制细菌的活性,进而影响PA生物膜形成和毒素的分泌;Oehmigen等^[29]也一致认为酸性环境更有利于活性物质穿透细菌细胞壁,溶液的酸度和ROS的协同作用会加速对细菌的清除效率。这与我们的研究结果一致。除此之外,ROS、pH还参与了多种生物系统涉及的重要细胞信号传递过程^[30-31]。群体感应系统是细菌间进行信息传递、生物膜形成、调控毒力基因表达及分泌的重要系

统,低温等离子体诱导的微环境变化是否介导群体感应系统的调控还需要进一步观察^[32-34]。

综上所述,本研究发现低温等离子体诱导的微环境改变介导了生物膜PA灭活、PA生物膜形成以及弹性蛋白酶的分泌过程。为低温等离子体对毒力因子作用机制探究提供了思路,为临床PA感染疾病防治提供了一种全新的物理技术手段。毒力基因是影响毒力因子作用的重要原因,下一步实验将从基因水平上探究低温等离子体对PA毒力因子调控基因的影响,从而进一步揭示低温等离子体对PA毒力因子的调控机制。医用紫外线对毒力因子的影响作用还需进一步观察。

作者贡献 张佳丽:实验构思,论文撰写;周明:提供资源;张孜孜:监督指导;刘杨晓雪:数据分析;赵天舒:实验方法设计,实验开展;耿雨涵:数据可视化处理;王刚:审读和修订;黄丽萍:资金获取,监督指导。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突。

数据共享声明 本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取,Email:13611184052@163.com。

参考文献

- 1 Jurado-Martín I, Sainz-Mejías M, McClean S. Pseudomonas aeruginosa: an audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (6): 3128.
- 2 Camus L, Vandenesch F, Moreau K. From genotype to phenotype: adaptations of Pseudomonas aeruginosa to the cystic fibrosis environment [J]. Microb Genom, 2021, 7 (3): mgen000513.
- 3 王国旗,唐佩福.慢性创面的治疗进展[J].解放军医学院学报,2018,39(5):444-446.
- 4 Huang K, Liu WB, Wei WY, et al. Photothermal hydrogel encapsulating intelligently bacteria-capturing bio-MOF for infectious wound healing [J]. ACS Nano, 2022, 16 (11): 19491-19508.
- 5 Wu YJ, Yu SY, Zhang XY, et al. The regulatory mechanism of cold plasma in relation to cell activity and its application in biomedical and animal husbandry practices [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24 (8): 7160.
- 6 Cao YZ, Tang M, Yang P, et al. Atmospheric low-temperature plasma-induced changes in the structure of the lignin macromolecule: an experimental and theoretical investigation [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68 (2): 451-460.
- 7 Duarte S, Panariello BHD. Comprehensive biomedical applications of low temperature plasmas [J]. Arch Biochem Biophys, 2020, 693: 108560.
- 8 Karthik C, Sarngadharan SC, Thomas V. Low-temperature plasma techniques in biomedical applications and therapeutics: an overview [J]. Int J Mol Sci, 2023, 25 (1): 524.

(下转第216页)