

Kaltes Plasma - vom Goldstandard in der Wundbehandlung zur Bekämpfung von Coronaviren und anderen respiratorischen Pathogenen

PD Dr. Julia Zimmermann*, Dr. Lisa Gebhardt*, Prof. Dr. Dr. h.c. Gregor Morfill*, Jens Kirsch*, PD Dr. Markus Perbandt°

*terrapiasma medical GmbH ist Hersteller des **plasma care®** welches seit Juni 2019 in der **Europäischen Union als Medizinprodukt der Klasse IIa zugelassen** ist.

°Viromed Gruppe, ist das führende Unternehmen für Diagnostik und digitale Vernetzung.

Zusammenfassung

Kaltes atmosphärisches Plasma besteht aus vielen Komponenten, darunter sogenannte reaktive Spezies, welche auf unterschiedliche Art und Weise mit biologischen Materialien interagieren können. Während diese Spezies auf Bakterien (inklusive multiresistente Erreger) und Viren inaktivierend wirken, wird in gesunden humanen Zellen das Zellwachstum angeregt. Dies macht man sich bereits in der Wundversorgung zu Nutze, denn mehrere Anwendungsbeobachtungen und Studien zeigen bereits den wundheilungsfördernden Effekt von kaltem atmosphärischem Plasma. Zusätzlich ist auch die heilungsfördernde Wirkung bei verschiedenen Hauterkrankungen wie Akne und Aktinischer Keratose dokumentiert. Die Anwendung von kaltem atmosphärischem Plasma ist mit wenig Aufwand verbunden und kann als Add-on zur herkömmlichen Therapie eingesetzt werden.

Doch nicht nur äußerlich können Bakterien eine medizinische Herausforderung darstellen. Beatmungsassoziierten Pneumonien (Ventilator-associated pneumonia – VAP) sind während maschineller Beatmung auftretende Infektionen der Atemwege. Diese Komplikationen treten besonders im Zuge des durch die Corona Pandemie verstärkten und häufig längerfristigen Bedarf nach maschineller Beatmung auf. Hier kann kaltes atmosphärisches Plasma, welches mittels Druckluft durch einen Schlauch in den Rachenraum eines beatmeten Patienten eingeleitet wird, helfen. Das Plasma unterstützt die Mundpflege durch seine antibakterielle Wirkung und reduziert somit den Pflegeaufwand. In Versuchen konnte in-vitro eine sehr gute Reduktion von Bakterien im Rachenraum durch kaltes Plasma und auch der inaktivierende Effekt auf SARS-CoV-2 Viren nachgewiesen werden. Perspektivisch kann dies ebenfalls in frühen Stadien einer COVID-19 Erkrankung genutzt werden, um die SARS-CoV-2 Virenlast in den oberen Atemwegen zu reduzieren und so einem schwerwiegenden Verlauf entgegenzuwirken.

Kaltes atmosphärisches Plasma in der Intensiv Medizin

Beatmungsassoziierte Pneumonien – Der Killer in der Intensivmedizin

Bakterien und Viren im Rachenraum stellen eine große Herausforderung für die Medizin dar: Beatmungsassoziierte Pneumonien (Ventilator-associated pneumonia – VAP) sind

Infektionen der Atemwege, die frühestens 48h nach dem Beginn einer maschinellen Beatmung auftreten. Sie sind eine der häufigsten und gefährlichsten Komplikationen der maschinellen Beatmung.

In einer am Uniklinikum Regensburg durchgeführten Studie an verstorbenen COVID-19 Patienten wurde festgestellt, dass bei 90% eine Sekundär-Infektion der Lunge durch Bakterien vorlag. In großangelegten Studien ist man zu dem Ergebnis gekommen, dass etwa 10% der beatmeten Patienten eine VAP entwickeln¹. Der Krankenhausaufenthalt wird dabei um 6-9 Tage verlängert², was wiederum das Risiko für weitere nosokomiale Infektionen, insbesondere mit multiresistenten Erregern (MRE) steigen lässt. Die Mortalität im Zusammenhang mit VAP wird auf 13% geschätzt und ist somit höher als bei den chirurgischen Intensivpatienten³⁻⁵.

Aktuelle Maßnahmen zur Vorbeugung von beatmungsassoziierten Pneumonien sind nur bedingt wirksam; es fehlen effektive und nachhaltig wirksame Methoden, welche das Risiko für das Auftreten einer VAP für die Intensivpatienten senken. Als neue Innovation in der Intensivmedizin, soll mit dem plasma intensive care® die in der Wundbehandlung etablierte Plasma-Technologie, für diesen Anwendungsbereich eröffnet und so die effektive Prävention von VAP durch eine Verbesserung der Mund-/Rachenhygiene erreicht werden. Hierbei ist neben der effektiven Inaktivierung von Bakterien auch die Entlastung des Pflegepersonals ein wichtiger Faktor: Die gründliche Pflege und Reinigung des Mundraums eines Intensivpatienten benötigt bislang etwa 8 Minuten, eine Anwendung mit dem plasma intensive care® hingegen 2 Minuten. Neben der Zeitersparnis von ca. einer Stunde bei 10 beatmeten Patienten, ist auch die Sicherheit der Pflegekräfte zu betrachten. Diese müssen sich um das plasma intensive care® anzuwenden nicht mehrere Minuten über einen potenziell hochinfektösen Patienten beugen, sondern können mit einem gewissen Abstand die Behandlung starten.



Abbildung 1: plasma intensive care®

Das plasma intensive care® (Abbildung 1) ist ein mobil einsetzbares Medizinprodukt, welches sich momentan in der Zulassung befindet, mit dem Ziel der Prävention von beatmungsassoziierten Pneumonien mit Hilfe von kaltem Plasma. Es wird kaltes Plasma erzeugt und mit Hilfe von medizinischer Druckluft über den Mund sanft in die oberen

Atemwege des beatmeten Patienten geleitet. Das Plasma wirkt stark antibakteriell, antiviral und antimykotisch und ist somit in der Lage die mikrobielle Besiedlung der oberen Atemwege um bis zu 5-log Stufen zu verringern, ohne dabei die Schleimhaut des Patienten zu schädigen. Das Gerät wird ausschließlich bei intubierten bzw. tracheotomierten Patienten eingesetzt, so dass der gesamte Respirationstrakt oberhalb des Cuffs behandelt wird. Das plasma intensive care® kann so maßgeblich zur Prävention von beatmungsassoziierten Pneumonien beigetragen.

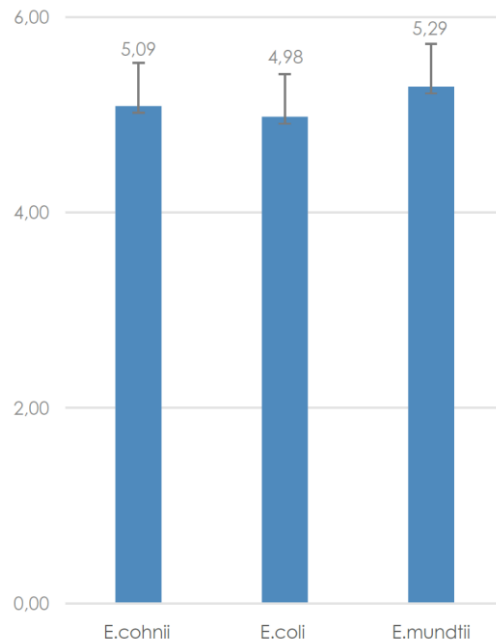


Abbildung 2: log-Reduktion bei der Behandlung verschiedener Bakterienstämme im Modellversuch

Die Anwendung des plasma intensive care® ist schnell und einfach durchführbar, schmerzlos, kosteneffizient sowie wirtschaftlich und stellt somit nach erfolgreicher Zulassung eine ausgezeichnete Ergänzung zu den herkömmlichen Präventionsmaßnahmen dar. Gerade im Rahmen der COVID-19 Pandemie ist die Indikation für eine maschinelle Beatmung und somit auch die Prävalenz von beatmungsassoziierten Pneumonien bei Intensivpatienten stark angestiegen, das plasma intensive care® wäre hier äußerst hilfreich, um dieser Herausforderung zu begegnen⁶.

„Für mich ist die Therapie von intensive-beatmeten Patienten mit kaltem Plasma eine äußerst vielversprechende Therapie zur Vermeidung von Beatmungsassoziierten Pneumonien. Insbesondere bei langzeit beatmeten COVID-19 Patienten bei denen dies oft eine potenzielle letale Komplikation darstellt.“

Prof. Dr. Andreas Link

Leiter Intensivstation ICU und IMC
Universitätsklinikum des Saarlandes

Zur potenziellen Wirksamkeit von kaltem Plasma zur Bekämpfung von Coronaviren und anderen respiratorischen Pathogenen

Eine aktuelle Studie zeigt, dass mittels einer kurzzeitigen CAP Behandlung eine >99.9% Reduktion von ENT (Ear, nose und throat) Pathogenen erzielt werden kann. Bei Behandlungszeiten von <60s konnten bei Schleimhautzellen lediglich leichte zytotoxische Effekte beobachtet werden ^{7,8}.

In einer weiteren aktuellen Studie wurde das große Potential einer CAP Behandlung bei einer Mittelohrentzündung über die Reduktion von Biofilm-bildenden Bakterien demonstriert⁹. Diese Untersuchungen unterstreichen das große Potential einer CAP-Behandlung bei ENT Infektionen.

Im Zusammenhang mit der derzeit immer noch andauernden COVID 19 Pandemie führten Chen et al. Ende 2020 Untersuchungen mit kalten Plasmen und SARS-CoV-2 durch¹⁰. Die Ergebnisse zeigten, wie erwartet, dass kalte Plasmen hocheffektiv SARS-CoV-2 Viren auf unterschiedlichen Oberflächen reduzieren können.

Um dem weiter nachzugehen, wurden im Labor von Albrecht von Brunn am Max-von-Pettenkofer-Institut in München Tests zur Empfindlichkeit von Coronaviren in Lösung gegenüber einer kalt Plasma Behandlung mit der plasma care durchgeführt. Dabei führte eine 6-minütige CAP-Behandlung zu einer mehr als 60%igen Reduktion der Luziferase-Aktivität in einem Reporter-Assay mit einem genetisch veränderten humanen Coronavirus (229E) bei einer Ausgangskonzentration von 3×10^7 pfu (A. von Brunn & Y. Ma-Lauer, siehe Abbildung 3).

Somit konnte gezeigt werden, dass Coronaviren in Lösung (z.B. im Speichel) mit dem plasma care® inaktiviert werden können.

Gemeinsam eröffnen diese Daten mit den bereits durchgeführten Sicherheitsuntersuchungen an humanen Schleimhautzellen/-gewebe neue Möglichkeiten zur Bekämpfung von COVID-19.

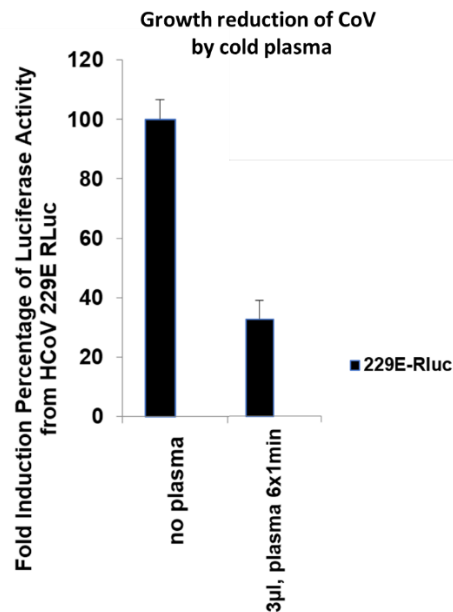


Abbildung 3: Inaktivierung von Coronaviren in Lösung mit dem plasma care®

Um zu klären, ob CAP tatsächlich bei der Behandlung einer COVID-19 Erkrankung helfen kann, wurden nun weitere Untersuchungen sowohl in Zellkulturen als auch mit COVID-19-Patienten initiiert. Dabei soll herausgefunden werden, ob eine CAP Behandlung die Viruslast in Mund, Nase und Rachen von COVID-19-Patienten reduziert und somit ein schwerer Verlauf mit Verlegung auf eine Intensivstation und künstlicher Beatmung verhindert werden kann. Weiterhin soll in diesen vorklinischen und geplanten klinischen Studien herausgefunden werden, ob und welche akuten zytotoxischen und Langzeitwirkungen bei definierten CAP Gerätekonfigurationen ggf. zu erwarten wären.

Die Firmen terraplasma medical und die Viomed-Gruppe führen bereits gemeinsam mit mehreren Kliniken und Universitäten weitere umfangreiche Untersuchungen und Studien durch.

„Kalt Plasma ist nicht nur eine vielversprechende Behandlungsform für intubierte Patienten sondern auch für die zukünftige Behandlung von Pneumonien direkt in der infizierten Lunge.“

PD Dr. Manfred Stangl

Leitender Oberarzt, Pulmologe

Transplantationszentrum LMU München

Das Ziel ist es, einen Risikopatienten der sich mit dem Corona-Virus infiziert hat umgehend mit einer kalten Plasma Therapie behandeln zu können, bei der kaltes Plasma in die oberen Atemwege appliziert wird um dadurch die virale Last zu reduzieren. Die Reduktion der Corona-Viren in den oberen Atemwegen würde dazu führen, dass deutlich weniger Corona-Viren in die Lunge vordringen können. Somit könnte eine massive Lungenentzündung vermieden werden und das Immunsystem würde Zeit

gewinnen sich gegen die verbleibenden Corona-Viren zu wehren und natürliche Abwehrkräfte aufzubauen.



Abbildung 4: Illustration einer möglichen Applikation von kaltem Plasma zur Behandlung der oberen Atemwege zur Reduktion respiratorischer Pathogene wie SARS-CoV-2

Unter dieser Annahme würde kaltes Plasma:

- SARS-CoV-2 in den oberen Atemwegen inaktivieren
- Ein massives Vordringen von SARS-CoV-2 in die Lunge verhindern
- Schwerwiegende COVID-19 Verläufe mit Lungenentzündungen verhindern
- Die mechanische Beatmungszeit von Intensivpatienten verkürzen
- Die Überlebenschancen von Intensivpatienten erhöhen
- Die Auslastung der Intensivstation reduzieren
- Das medizinische Personal auf der Intensivstation entlasten

Kaltes atmosphärisches Plasma in der Wundbehandlung

Während die meisten Wunden innerhalb kurzer Zeit heilen, leiden etwa 4 Mio. Menschen allein in Deutschland unter chronischen Wunden - Wunden, die trotz leitliniengerechter Versorgung innerhalb von acht Wochen nicht abheilen. Die Ursachen für eine Wundheilungsstörung können vielschichtig sein, auch die Altersstruktur, Vorerkrankungen und damit einhergehende unzureichende Durchblutung, Fremdkörper in der Wunde sowie eine eventuelle Bakterienbesiedelung können einen Anteil daran haben¹¹⁻¹⁴. Der Verlust an Lebensqualität ist durch die mit einer chronischen Wunde einhergehende Immobilität und den hohen Therapieaufwand auch bei schmerzlosen Wunden für die Betroffenen sehr hoch. Gerade Wundinfektionen stellen dabei auch für den Behandelnden aufgrund der

zunehmenden Antibiotika-Resistenzen immer häufiger große Herausforderungen dar.^{15,16} Durch CAP kann die Keimlast in der Wunde signifikant reduziert und zudem das Zellwachstum angeregt werden.¹⁷⁻²⁰

Seit 2019 ist das plasma care® als erstes handliches und batteriebetriebenes Medizinprodukt der Klasse IIa in der Europäischen Union für die Wundbehandlung zugelassen.

Das plasma care® Gerät (Abbildung 5) zeigte in Laborversuchen eine exzellente Wirkung gegen verschiedene Bakterien, welche häufig in Wunden aufgefunden werden, einschließlich MRSA (Abbildung 8). Die Anwendung des plasma care® ist als Add-on zur herkömmlichen Wundbehandlung mit wenig Aufwand verbunden. Das Gerät wird lediglich während des Verbandwechsels und nach Reinigung der Wunde für 1 Minute auf die Wunde aufgesetzt. Eine anschließende Behandlung der Wunde mit Antibiotika oder Salben kann, falls gewünscht, wie gewohnt durchgeführt werden. Eine zwei bis drei Mal pro Woche durchgeführte Behandlung mit CAP zeigte in den meisten Fällen bereits in der zweiten Woche positive Effekte auf die Wundheilung.

Insgesamt wurde das plasma care® bereits bei mehr als 3.000 Patienten in über 30.000 erfolgreichen Behandlungen eingesetzt. Hierbei wurden keine Schmerzen aufgrund der Anwendung berichtet (Beispiele in Abbildung 5 und 6).



Abbildung 5: plasma care® - ein Medizinprodukt Klasse IIa zur Behandlung von Wunden mit kaltem atmosphärischem Plasma



Abbildung 6: Beispiel 1: Dekubitus im Nacken: Sieben Kaltplasma-Behandlungen in drei Wochen, die ersten Behandlungen wurden an aufeinander folgenden Tagen durchgeführt; Vollständige Epithelisierung nach 22 Tagen.



Abbildung 7: Beispiel 2: Diabetisches Fußsyndrom: Zwei Behandlungen mit CAP pro Woche in den ersten drei Wochen, anschließend alle 14 Tage (Neun Behandlungen in 12 Wochen); Abheilung innerhalb von 12 Wochen nach Beginn der Plasmatherapie

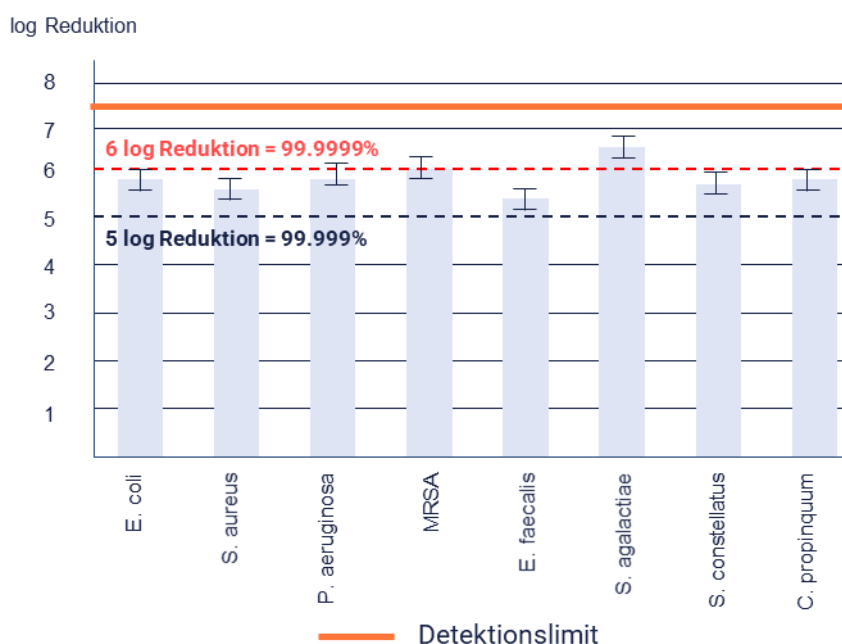
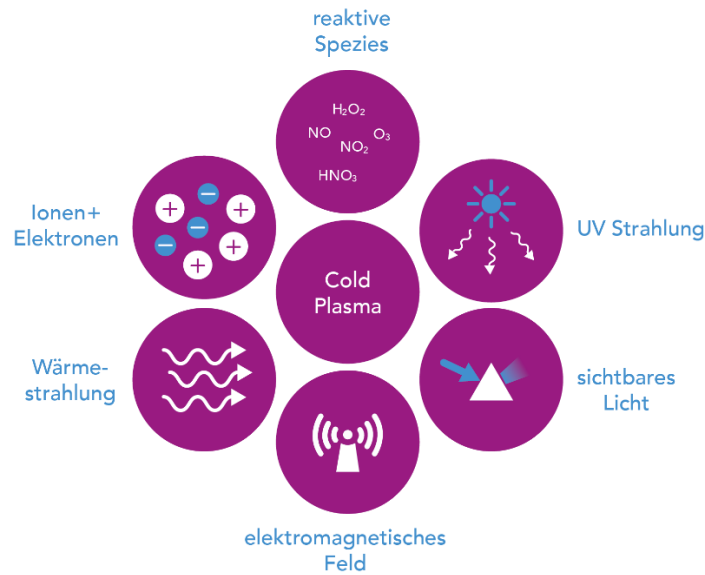


Abbildung 8: Ergebnisse der Inaktivierung von RK II-Bakterien bei 1 min CAP-Behandlung. Dargestellt sind die Mediane der log Reduktion und die dazugehörigen Fehler (Maxima/Minima) von sechs unabhängigen Experimenten.

Neben der Wundbehandlung wird CAP in der Dermatologie bereits als vielversprechende Möglichkeit beispielsweise bei Akne und Aktinischer Keratose gesehen.²¹⁻²⁵

Wie funktioniert kaltes atmosphärisches Plasma?

Kaltes atmosphärisches Plasma (Cold Atmospheric Plasma – CAP) ist ein teilweise ionisiertes Gas, das aus einem reaktiven Mix aus Elektronen, Ionen, angeregten Atomen und Molekülen, reaktiven Spezies (wie z.B. reaktive Sauerstoff und Stickstoff Spezies (RONS)), UV-Strahlung und Wärme besteht.



Die Wechselwirkung von CAP mit verschiedenen biologischen Materialien wurde in den letzten zwei Dekaden intensiv untersucht ²⁶⁻³⁰:

CAP zerstören und inaktivieren hocheffizient Bakterien (inklusive multiresistente Erreger wie z.B. MRSA) und Viren – wie zahlreiche Publikationen demonstrieren ³¹⁻³⁴. Die durch das Plasma induzierten Prozesse (z.B. Elektron-Ion Rekombination, RONS etc.) verursachen winzige Poren in den Membranen der Pathogene. In Bakterien und Viren zerstören diese Zellstrukturen einschließlich der freiliegenden DNA, was zur Inaktivierung der Pathogene führt. Antibiotika- und andere Resistenzen haben hierbei keinen Einfluss.

Im Vergleich zu den Pathogenen sind humane Zellen – auf Grund ihres schützenden Zellkerns und zellulärer Reparaturmechanismen - weitaus widerstandsfähiger gegen das eindringende Plasma und werden bei kurzzeitiger Exposition nicht geschädigt ³⁵⁻³⁸. *In vitro* Studien zeigen zudem, dass der durch das kalte Plasma induzierte oxidative Stress zellbiologische Überlebensmechanismen sogar stimuliert ³⁹⁻⁴³. Dies erklärt die in diversen klinischen Studien und Fallberichten belegte verbesserte Wundheilung. ⁴⁴⁻⁴⁷

Referenzen:

1. K. Dalhoff *et al.* S3-Leitlinie - Epidemiologie, Diagnostik und Therapie erwachsener Patienten. (2017).
2. Beyersmann, J. *et al.* Use of multistate models to assess prolongation of intensive care unit stay due to nosocomial infection. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **27**, 493–499 (2006).
3. Melsen, W. G. *et al.* Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect. Dis.* **13**, 665–671 (2013).
4. Ferrer, M. & Torres, A. Epidemiology of ICU-acquired pneumonia: *Curr. Opin. Crit. Care* **24**, 325–331 (2018).
5. Papazian, L., Klompas, M. & Luyt, C.-E. Ventilator-associated pneumonia in adults: a narrative review. *Intensive Care Med.* **46**, 888–906 (2020).
6. Simonnet, A. *et al.* High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity* **28**, 1195–1199 (2020).
7. Becker, S. *et al.* Effects of cold atmospheric plasma (CAP) on bacteria and mucosa of the upper aerodigestive tract. *Auris. Nasus. Larynx* **46**, 294–301 (2019).
8. Welz, C. *et al.* Effects of cold atmospheric plasma on mucosal tissue culture. *J. Phys. Appl. Phys.* **46**, 045401 (2013).
9. Sun, P. P. *et al.* Inactivation and sensitization of *Pseudomonas aeruginosa* by microplasma jet array for treating otitis media. *NPJ Biofilms Microbiomes* **7**, 48 (2021).
10. Chen, Z., Garcia, G., Arumugaswami, V. & Wirz, R. E. *Cold plasma for SARS-CoV-2 Inactivation*. <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.09.17.20192872> (2020)
doi:10.1101/2020.09.17.20192872.
11. Prävention postoperativer Wundinfektionen: Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* **61**, 448–473 (2018).
12. Giebeler, C., Riecke, S. & Riedl, S. Versorgung von chronischen Wunden und Wundheilungsstörungen. *Allg. Visz. Up2date* **14**, 451–462 (2020).
13. Gardner, S. E., Frantz, R. A. & Doebbeling, B. N. The validity of the clinical signs and symptoms used to identify localized chronic wound infection. *Wound Repair Regen. Off. Publ. Wound Heal. Soc. Eur. Tissue Repair Soc.* **9**, 178–186 (2001).
14. Stratmann, B. *et al.* Effect of Cold Atmospheric Plasma Therapy vs Standard Therapy Placebo on Wound Healing in Patients With Diabetic Foot Ulcers: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw. Open* **3**, e2010411 (2020).
15. Cutting, K. F. & Harding, K. G. Criteria for identifying wound infection. *J. Wound Care* **3**, 198–201 (1994).
16. Téot, L. World Union of Wound Healing Societies. *Int. J. Low. Extrem. Wounds* **2**, 188–188 (2003).
17. Daeschlein, G. *et al.* Skin decontamination by low-temperature atmospheric pressure plasma jet and dielectric barrier discharge plasma. *J. Hosp. Infect.* **81**, 177–183 (2012).
18. Zimmermann, J. L. *et al.* Test for bacterial resistance build-up against plasma treatment. *New J. Phys.* **14**, 073037 (2012).
19. Isbary, G. *et al.* Cold atmospheric argon plasma treatment may accelerate wound healing in chronic wounds: Results of an open retrospective randomized controlled study in vivo. *Clin. Plasma Med.* **1**, 25–30 (2013).

20. Isbary, G. *et al.* A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. *Br. J. Dermatol.* **163**, 78–82 (2010).
21. Mariachiara, Dr. A. *et al.* Cold atmospheric plasma (CAP) as a promising therapeutic option for mild to moderate acne vulgaris: Clinical and non-invasive evaluation of two cases. *Clin. Plasma Med.* 100110 (2020) doi:10.1016/j.cpme.2020.100110.
22. Arisi, M. *et al.* Cold Atmospheric Plasma (CAP) for the Treatment of Actinic Keratosis and Skin Field Cancerization: Clinical and High-Frequency Ultrasound Evaluation. *Dermatol. Ther.* (2021) doi:10.1007/s13555-021-00514-y.
23. Friedman, P. C., Miller, V., Fridman, G., Lin, A. & Fridman, A. Successful treatment of actinic keratoses using nonthermal atmospheric pressure plasma: A case series. *J. Am. Acad. Dermatol.* **76**, 349–350 (2017).
24. Koch, F. *et al.* Efficacy of cold atmospheric plasma vs. diclofenac 3% gel in patients with actinic keratoses: a prospective, randomized and rater-blinded study (ACTICAP). *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* (2020) doi:10.1111/jdv.16735.
25. Prof. Dr. med. Rösch, A., Salva, K. & McGovern, M. DRKS00012714 - ACTICAP; Eine prospektive, randomisierte, monozentrische, untersucherverblindete Studie zur Evaluation der Veränderung des kutanen Mikrobioms in Korrelation zum Ansprechen von kaltem atmosphärischem Plasma im Vergleich zu Diclofenac 3% in 2,5 % Hyaluronsäure (Solaraze 3% Gel(R)) in Patienten mit aktinischen Keratosen.
https://www.drks.de/drks_web/navigate.do?navigationId=trial.HTML&TRIAL_ID=DRKS00012714
26. Graves, D. B. The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology. *J. Phys. Appl. Phys.* **45**, 263001 (2012).
27. Klämpfl, T. G. *et al.* Cold atmospheric air plasma sterilization against spores and other microorganisms of clinical interest. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 5077–5082 (2012).
28. Boehm, D. & Bourke, P. Safety implications of plasma-induced effects in living cells – a review of in vitro and in vivo findings. *Biol. Chem.* **400**, 3–17 (2018).
29. Isbary, G. *et al.* Cold atmospheric plasma devices for medical issues. *Expert Rev. Med. Devices* **10**, 367–377 (2013).
30. Emmert, S. *et al.* Combining Biocompatible and Biodegradable Scaffolds and Cold Atmospheric Plasma for Chronic Wound Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 9199 (2021).
31. Zimmermann, J. L. *et al.* Effects of cold atmospheric plasmas on adenoviruses in solution. *J. Phys. Appl. Phys.* **44**, 505201 (2011).
32. Sun, P. P. *et al.* Atmospheric pressure cold plasma as an antifungal therapy. *Appl. Phys. Lett.* **98**, 021501 (2011).
33. Alshraideh, N. H. *et al.* Eradication and phenotypic tolerance of *Burkholderia cenocepacia* biofilms exposed to atmospheric pressure non-thermal plasma. *Int. J. Antimicrob. Agents* **47**, 446–450 (2016).
34. Shimizu, T., Zimmermann, J. L. & Morfill, G. E. The bactericidal effect of surface micro-discharge plasma under different ambient conditions. *New J. Phys.* **13**, 023026 (2011).
35. Welz, C. *et al.* Cold Atmospheric Plasma: A Promising Complementary Therapy for Squamous Head and Neck Cancer. *PLoS One* **10**, e0141827 (2015).
36. Boxhammer, V. *et al.* Investigation of the mutagenic potential of cold atmospheric plasma at bactericidal dosages. *Mutat. Res.* **753**, 23–28 (2013).

37. Maisch, T., Worlicek, C., Babilas, P., Landthaler, M. & Szeimies, R.-M. A HCl/alcohol formulation increased 5-aminolevulinic acid skin distribution using an *ex vivo* full thickness porcine skin model. *Exp. Dermatol.* **17**, 813–820 (2008).
38. Maisch, T. *et al.* Investigation of toxicity and mutagenicity of cold atmospheric argon plasma. *Environ. Mol. Mutagen.* **58**, 172–177 (2017).
39. Von Woedtke, T., Schmidt, A., Bekeschus, S., Wende, K. & Weltmann, K.-D. Plasma Medicine: A Field of Applied Redox Biology. *In Vivo* **33**, 1011–1026 (2019).
40. Arndt, S., Unger, P., Berneburg, M., Bosserhoff, A.-K. & Karrer, S. Cold atmospheric plasma (CAP) activates angiogenesis-related molecules in skin keratinocytes, fibroblasts and endothelial cells and improves wound angiogenesis in an autocrine and paracrine mode. *J. Dermatol. Sci.* **89**, 181–190 (2018).
41. Borchardt, T. *et al.* Effect of direct cold atmospheric plasma (diCAP) on microcirculation of intact skin in a controlled mechanical environment. *Microcirculation* **24**, e12399 (2017).
42. Scharf, C. *et al.* Improved Wound Healing of Airway Epithelial Cells Is Mediated by Cold Atmospheric Plasma: A Time Course-Related Proteome Analysis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2019**, 7071536 (2019).
43. Bekeschus, S. *et al.* Redox Stimulation of Human THP-1 Monocytes in Response to Cold Physical Plasma. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, 1–11 (2016).
44. Heinlin, J. *et al.* Randomized placebo-controlled human pilot study of cold atmospheric argon plasma on skin graft donor sites. *Wound Repair Regen. Off. Publ. Wound Heal. Soc. Eur. Tissue Repair Soc.* **21**, 800–807 (2013).
45. Heinlin, J. *et al.* A randomized two-sided placebo-controlled study on the efficacy and safety of atmospheric non-thermal argon plasma for pruritus. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV* **27**, 324–331 (2013).
46. Amini, M. R. *et al.* Beneficial effects of cold atmospheric plasma on inflammatory phase of diabetic foot ulcers; a randomized clinical trial. *J. Diabetes Metab. Disord.* **19**, 895–905 (2020).
47. Mirpour, S. *et al.* Cold atmospheric plasma as an effective method to treat diabetic foot ulcers: A randomized clinical trial. *Sci. Rep.* **10**, (2020).