

دراسة تأثير نمط تشغيل ليزر النيديميوم-ياك على قتل خلايا بكتيرية مرضية في محلول ملحي فسيولوجي

مهنا عادل

معهد تكنولوجيا ، بغداد .

الخلاصة

حضرت العينات لغرض التشعيع من المحلول الفسيولوجي الحاوي على بكتريا *Escherichia.coli* في حجم ٠.٥ سم^٣ تم اجراء تشعيع العينات لفترات مختلفة لكن بنفس الجرعة الإشعاعية والطول الموجي لغرض المقارنة بين القدرات العالية والقدرات الواطئة على نسبة القتل البكتيري وقد تم الحصول على نسبة قتل أعلى بليزر النيديميوم-ياك ذوالنمط تشغيله النبضي (القدرة العالية) على ليزر النيديميوم-ياك ذو النمط تشغيله المستمر (القدرة الواطئة) وسبب ذلك هو امتصاص الخلية طاقة عالية بزمن قصير يؤدي الى تحطمتها دون تمددها تدريجيا الذي يحصل عند الطاقات الواطئة وبزمن طويل .

المقدمة:

المواد و العملي :

المواد :

اسم المادة	المصطلح العلمي	المنشأ
١	وسط مغذي	Biolife-Italy
٢	وسط مغذي	Analar-England
٣	كلوريد الصوديوم	Fluka
٤	كحول ايثيلي	analar

الأجهزة والأدوات:

اسم الجهاز او الأداة	المنشأ
١	ليزر النيديميوم-ياك النبضي
٢	ليزر النيديميوم-ياك المستمر
٣	حاضنة
٤	أنايب، ماصات، دوارق زجاجية، حامل، اطباق الزرع....الخ.

١- تحضير المستعمرات

نقلت بكتريا *Escherichia.coli* من الوسط الذي يحتوي على بكتريا *Escherichia.coli* التي تم عزلها مسبقا وتم زراعتها في وسط مغذي (nutrient agar) تحت ظروف معقمة ثم حضت البكتريا بدرجة حرارة ٣٧° ولمدة ١٨ ساعة في الحاضنة لغرض تشعيها فيما بعد.

بيعت ليزر النيديميوم-ياك في المنطقة تحت الحمراء القريبة بطول موجي 1064nm وله استخدامات عديدة في مجال الطب والتعقيم فله القابلية على قتل الأحياء المجهرية كالبكتريا والفطريات فهذا الليزر تأثيرات حرارية بسبب لان امتصاصيته العالية من قبل جزيئات الماء [1],[2] حيث يشغل الماء نسبة عالية من الخلية الحية على غرار الليزر التي تبعث في المنطقة المرئية والفوق بنفسجية حيث التأثير هنا مختلف فالتأثير هنا كيميائي حيث إن فوتونات الأشعة المرئية والفوق بنفسجية لها القابلية على إحداث تفاعل كيميائي في الجزيئات الحية وهي ما تسببه الأشعة فوق بنفسجية من تثبيط الخلية بسبب إحداث تغيير جيني في الحامض النووي للخلية الحية ولو كانت جرعة قليلة في حين إن التأثير الذي يسببه الأشعة تحت الحمراء هو تأثير حراري لان طاقة الفوتونات واطئة فلا تحدث أي تفاعل كيميائي [2] . إذ إن عملية القتل البكتيري بالليزر تتعلق بعدة عوامل منها ما هو متعلق بتفاعل الليزر مع الوسط مثل الخواص البصرية للوسط أي مدى انعكاسيته وامتصاصيته والخواص الحرارية أي معامل انتشار الحرارة الى ومعامل التوصيل الحراري وهناك عوامل أخرى متعلقة بالليزر طول الموجي ، قدرته ، نمط تشغيله وكلها عوامل مهمة في تفاعل أشعة الليزر مع الوسط الذي يحتوي بكتريا ولا تقل أهمية عامل عن العامل الأخر [3],[4],[7] .

النبضي والتي تساوي ٢.٥ جول وأمد ٩-١٠ ثانية قد امتصت من قبل الماء حيث إن الماء يمتص الأشعة تحت الحمراء وبما أن الخلية الحية تحتوي على ٧٠% ماء فجميع الطاقة امتصت من قبل ماء الخلية الحية وبزمن قصير أدى إلى ارتفاع حرارة الخلية الحية وبشكل مفاجئ وهذا أدى ارتفاع الضغط وتحطم الخلية الحية في حين إن الليزر نمط المستمر أدى إلى ارتفاع حرارة الخلية الحية وبشكل مندرج حال دون تحطم الخلية بل موتها بسبب الحرارة المرتفعة وهذا متفق مع المصدر [5],[6]. فقد تم الحصول على نسبة قتل ٩٥.٨% بليزر النيديميوم-ياك النبضي في حين كانت نسبة القتل ٩٣% بالليزر المستمر عند نفس الجرعة وهذا يؤدي تفوق الليزر النبضي على الليزر المستمر.

والشكل (٥) يوضح أن القتل البكتيري بالليزر النبضي كان بنسبة قتل أعلى في درجة حرارة أعلى بقليل من الليزر المستمر وكان بسبب أن التشعيع كان بزمن اقصر بالليزر النبضي حال دون فقدان الحرارة بالتشعيع الى المحيط. اما بالنسبة لمتغير الزمن وكما هو واضح من الشكل (٦) فقد تم الحصول على نسبة قتل أعلى بزمن اقصر بالليزر النبضي وإذا اخذ الزمن ٢٠ دقيقة فقد سجلت نسبة القتل بالليزر المستمر ٨٣% في حين كانت بالليزر النبضي عند هذا الزمن ٩٥% وهذا يؤكد تفوق الليزر النيديميوم-ياك النبضي على المستمر عند نفس ظروف ومعاملات التشعيع.

الاستنتاجات:

أظهرت نتائج التشعيع تفوق ليزر النيديميوم-ياك نمط التشغيل النبضي (القدرة العالية) عن نمط التشغيل المستمر (القدرة الواطئة) عند نفس معاملات التشعيع وهذا يؤكد تحطم الخلية بسبب ارتفاع الضغط المفاجئ في حين كان موت الخلية بالليزر نمط المستمر بسبب الحرارة المرتفعة.

الجدول (١)

٢- تحضير المحلول الملحي

تم تحضير المحلول الملحي وذلك بإذابة ٠.٩ غم من ملح كلوريد الصوديوم NaCl لكل ١٠٠ مل من الماء المقطر ثم عقم في جهاز التعقيم وبعدها تم سكب ٠.٥ سم^٣ من المحلول ذاته في أنابيب اختبار بحجم ١ سم^٣

٣- تشعيع العينات

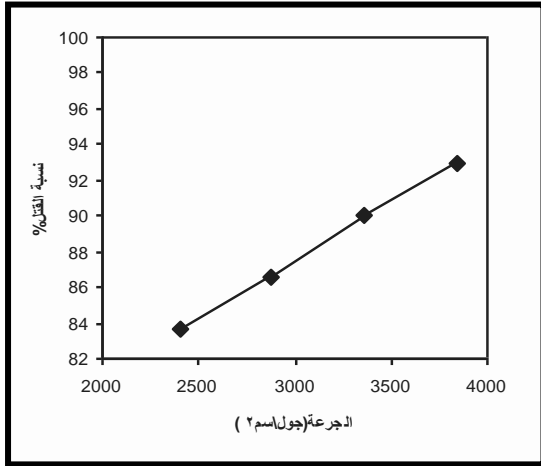
تم نقل البكتريا من وسط مزرعة للبكتريا التي تم تحضيرها في الفقرة ١ إلى المحلول الملحي ذو الحجم ٠.٥ سم^٣ وذلك بأخذ مساحة من سطح المستعمرة البكتيرية وخلطها مع المحلول الملحي وتم حساب إعداد البكتريا بطريقة الزرع تم تشعيع العينات بحث يكون شعاع الليزر يسقط عموديا على العينة كما في الشكل (١) استخدم ليزر النيديميوم-ياك بنمطين النبضي والمستمر فالنبضي بطاقة نبضة ٢.٥ جول وأمد نبضة ٩-١٠ ثانية بمعدل نبضة كل ثلاثة ثوان اما الليزر المستمر فكان بقدرة ٠.٥ واط اما حجم بقعة الليزر فكانت ٠.٥ سم^٢ بعد التشعيع تم حساب أعداد البكتريا الحية وذلك بزعرها بالوسط المغذي (MacConkey agar) [8] تم تثبيت (مساواة الجرعة) الجرعة لكلا الليزرين من خلال تغيير طاقة نبضة الليزر النبضي .

النتائج والمناقشة :

أظهرت نتائج التشعيع تناقص الأعداد الحية بزيادة جرعة التشعيع بالليزر النيديميوم-ياك وكما هو ملاحظ من الجدول (١)، (٢) يبينان نسبة القتل لكلا النمطين حيث أظهرت النتائج ان أعلى نسبة قتل وهي ٩٥% تم الحصول عليها التشعيع بليزر النمط النبضي عند جرعة 3840 جول/سم^٢ وهذا القتل البكتيري بسبب التأثيرات الحرارية لليزر النيديميوم-ياك [3] كما هو موضح بالشكلين (٢،٣). أن نسبة القتل بالليزر النيديميوم-ياك ذي النمط التشغيل النبضي أعلى من نسبة القتل من الليزر ذو النمط المستمر عند نفس الجرعة الإشعاعية وهذا يثبت كفاءة ليزرات القدرة العالية على ليزرات القدرة الواطئة كما هو واضح بالشكل (٤) حتى عند نفس الجرعة والطول الموجي ويظهر بشكل واضح عند الجرعة ٢٤٠٠ جول/سم^٢ بعدها يقل الفارق بنسبة القتل بين النمطين لليزر ويعود سبب ذلك إذ أن طاقة نبضة الليزر

نتائج التشعيع باستخدام ليزر النيديميوم-ياك ذي نمط

التشغيل المستمر

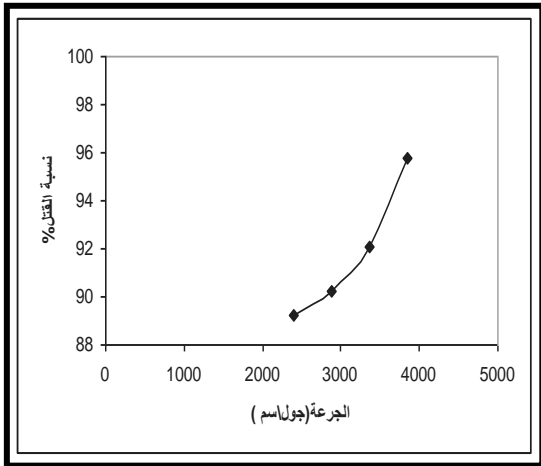


الشكل (٢) : نسبة القتل البكتيري كدالة للجرعة باستخدام ليزر النيديميوم-ياك المستمر.

درجة الحرارة المئوية	نسبة القتل %	العدد الحي * ١٠ ^٦	الجرعة (جول/سم ^٢)	مدة التعرض (الدقيقة)
٣٠	٨٣.٧	1.3	٢٤٠٠	٢٠
٣٥	٨٦.٦	1.1	٢٨٨٠	٢٤
٣٩	٩٠	0.5	٣٣٦٠	٢٨

الجدول (٢)

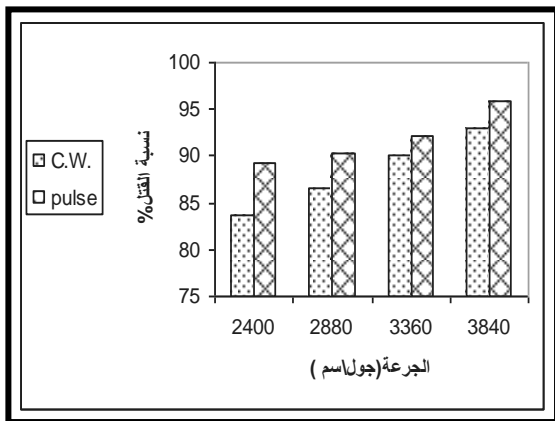
نتائج تشعيع باستخدام ليزر النيديميوم-ياك النبضي



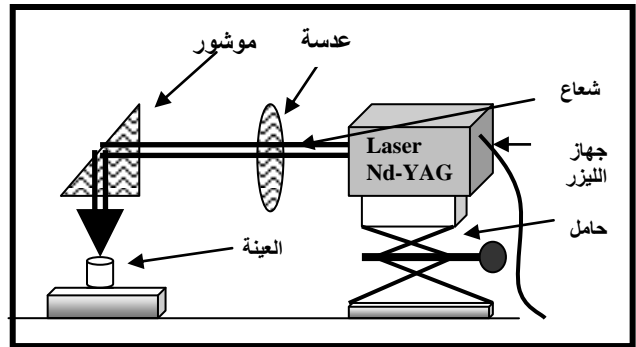
الشكل (٣) : نسبة القتل البكتيري كدالة للجرعة باستخدام ليزر النيديميوم-ياك النبضي.

درجة الحرارة المئوية	نسبة القتل %	العدد الحي * ١٠ ^٦	الجرعة (جول/سم ^٢)	مدة التعرض (الدقيقة)
٣٢	89.2	0.86	٢٤٠٠	١٢
٣٧	90	0.76	٢٨٨٠	14.4
٤٢	95.8	0.33	٣٣٦٠	19.2

* العدد الحي قبل المعاملة = 8×10^6 خلية/سم^٢



الشكل (٤) : يوضح نسبة القتل البكتيري كدالة للجرعة.



الشكل (١) : يوضح طريقة التشعيع العينات البكتيرية

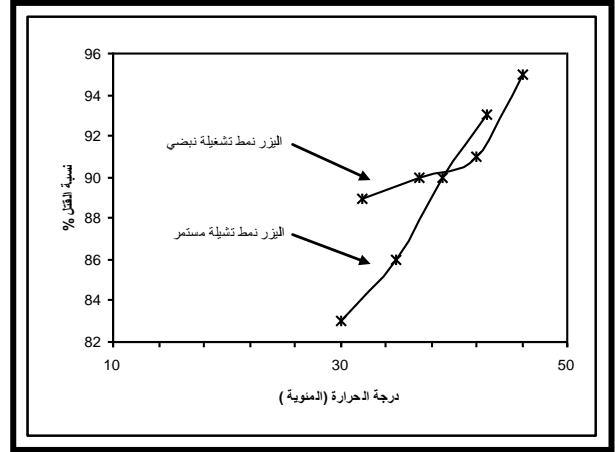
institute journal (1989) http://www.univ-lille2.fr/safelase/english/tiss_en.html

[8]Singleton, P. "Bacteria in biology, biotechnology & medicine " 4th edition, England pp1-23,46-53, 1997.

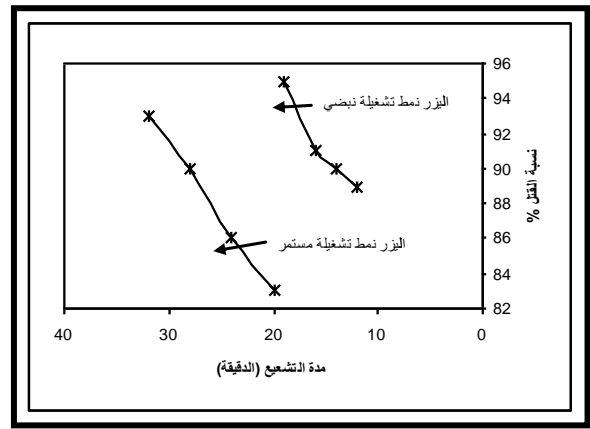
Abstract

Samples of physiological solution which contain *Escherichia.coli* bacteria in a one size 0.5cm³ were prepared, then samples has been radiated by Nd-YAG laser with two mode working in different periods, same dose and wavelength to compare between high power and low power laser for percent of killing, the results revealed occurrence of higher percent of killing by pulsing mode than continuous mode due to destroyed cell when it is absorb a high energy in short time that won't expand the cell by heat that it is happen in long time and a low energy.

Keyword: phsiological solution, dose, laser, bacteria.



الشكل (٥) : نسبة القتل البكتيري كدالة لدرجة الحرارة .



الشكل (٦) : نسبة القتل البكتيري كدالة لمدة التشعيع.

المصادر:

- [1]Barch, V. M." absorption spectra of molecules " pp35-60 ,1985.
- [2]Moore, C. B." chemical and biochemical of laser applications" printed in N. Y. Academic 2nd vol:1,pp339-390,1999.
- [3]Saham Kandlia "laser physics in medicine" Dar Al-Hkma 1st pp93-98, 1991.
- [4]Absten, G.D. & Joffe, S.N." laser in medicine"chapman and hall,pp:22-24, 1985.
- [5]Ward, G.D. and Waston, I.A." Bactericidal action of high-power Nd-YAG laser light on *Escherichia coli* in saline suspension" journal of applied microbiology vol:89, pp:517.
- [6]Al-watban, F.A." The comparison of effects between pulsed and CW lasers on wond healing" journal of clinical laser medicine and surgery vol:22, No.1,pp15-18,2004.
- [7]Welch,A.J.& Torres,J.H. "interaction of the laser beam with living tissue" texas heart