التأثيرات المميتة لليزردايود على بكتريا *pseudomonas aerugniosa* "المعزولة من الجروح "

ياسر خلف محمد

كلية طب الأسنان – جامعة تكريت

صندوق بريد :- 42

E-mail :- yasirkhalaf @yahoo.Com

الخلاصة

بينت الدراسة الحالية لليزر دايود ذو طاقة (120)mW , بطـــول موجي (650)nm , وبكثافة قـدرة (الشدة) W/cm^2 (1123.234) , المستمر (CW) . ان تعريض البكتريا من نوع *Pseudomonas aerugiosa* لأشعة لليزر الدايودية بعد تبئيره بعدسة ذات بعد بؤري cm (10) لفترات زمنية min(5,10,15,20,25) قد اظهرت تاثيرا حادا على بكتيريا من نوع *Pseudomonas aerugiosa*

Lethal Effect of Diode Laser on the Bacteria *Pseudomonas aerugiosa* Isolated from wounds

Yasir K. Mohammed

Collage of Dentistry University of Tikrit

B.o. box 42

E – Mail: - yasirkhalaf @yahoo.com

ABSTRACT

The study Diode Laser with power of (120) mw and (650) wavelength and power density (1123.234) W/cm^2 continues (CW) . Also shows that the expose of the sample of bacteria *Pseudomonas aerugiosa* to Diode Laser after focal point in lens of focal point (10) cm for periods of time (5,10,15,20,25) min. This study is prove effectiveness violent of bacteria *Pseudomonas aerugiosa*.

1- المقدمة Introduction

إن السنوات الأولى من اكتشاف أشعة الليزر أدت إلى ولادة تقنية حديثة أثبتت بالتوسع الكبير في استعمالاته , حيث تستطيع أشعة الليزر قطع ولحام ليس فقط المعادن والبلاستيكات وإنما أعضاء الجسم البشري أيضا , فقد استعملت أشعة الليزر في أنواع كثيرة من العمليات الطبية وأثبتت كفاءتها ، الليزر يعوض عن مشرط الجراح وهذه الطريقة تدعى بصورة عامة الجراحة بدون دماء ، لكون الحرارة الناتجة من الليزر تغلق الأوعية الدموية حول موقع القطع وتمنع النزف [1]. وكما هو معروف اليوم فان الطول ألموجي لأشعة الليزر يمتد من المنطقة فوق البنفسجية والتي يصل طولها الموجي إلى (1000)انكستروم الى المنطقة تحت الحمراء مرورا بالمنطقة المرئية [2] من ابرز الاستخدامات الناجحة استعمال ليزر النيتروجين كمقص ليزري للخلايا نظرا للدقة العالية ويمكن تطبيقها في إحداث طفرات وراثية حيث يقوم الليزر بتقطيع نهايات الكروموسوم فضلا عن إحداث شق في احد جوانب الخلية [3] . كذلك ظهرت أبحاث تحث على استخدام أشعة الليزر لتسريع الشفاء وخاصة بعد قلع السن لتقليل الإصابة البكتيرية باستخدام أشعة ليزر ذات طاقة واطئة وبجرعات متعددة لمدة عشرة دقائق [4] . كما تم استخدام أشعة الليزر في الطب وخاصة علاج الأورام السرطانية وذلك بسبب الخاصية النوعية لأشعة الليزر في قتل خلايا دون غيرها [5] . حيث ان الهدف من الدراسة هو ملاحظة تأثير ليزر هليوم نيون على بكتيريا *Pseudomonas aerugiosa*

عام 1993 انجزت دراسة حول ايقاف تنخر الاسنان وذلك باستخدام أشعة ليزر الاركون Ar^+ لازمان .sec(10-20-30) وعلى بعد cm (0.5-1-1.5) من السن وبشدة (510) mW/cm^2 على السن حيث أدى إلى إيقاف تنخر الأسنان وتحسين قدرة المينا لمقاومة النخر [6] . في عام 1995 انجزت دراسة حول تأثير ليزر هليوم- نيون على بكتيريا *Streptococcus mutans* بعد طمرها بمادة Collagen matrix وتبين زيادة في التحسس الضوئي مما أدى إلى قتل البكتيريا المسببة لتسوس السن حتى بعد طمر البكتريا في عاج السن [7] . في عام 1998 انجزت دراسة حول تأثير أشعة ليزر هليوم – نيون (He–Ne) لوحدها وبوجود المحفزات الخارجية مثل المحلول التوليدي الازرق كمحلول اليود الكحولي وكذلك مع او بدون محلول هايبوكلورايت الصوديوم الحاوي على عنصر الكلور في امكانية قتل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح. [8] . في عام 2000 أجريت دراسة حول تأثير ليزري هليوم- نيون (He-Ne)وليزر النتروجين (N_2) على بكتيريا *Escherichia coli* حيث تم تعريض العينات البكتيرية الموجودة في أوساط سائلة للأشعة لفترات مختلفة ووجد الباحث تناقص أعداد البكتيريا مع زيادة الجرعة وقد أعزى الباحث آلية القتل إلى حدوث تفاعلات كيماوية في الجزيئات الحيوية للخلية [9]. في عام 2000 استخدام ليزر الاكسايمر على بكتيريا *Bacillus subtilis* اوضحت الدراسة ان ارتفاع درجة حرارة البكتريا بفعل ليزر الاكسايمر ادى الى موت عدد كبير من هذه البكتريا [10] . كما اجريت في عام 2001 دراسة حول تأثير ليزر النايتروجين وثاني اوكسيد الكاربونN_2 & CO_2 في قتل اربع عزلات من البكتيريا الامرضية حيث تم استعمال نوعي الليزر لتشعيع العينة فكانت نسبة القتل باستخدام ليزر ثاني اوكسيد الكاربون اعلى من نسبة القتل باستخدام ليزر النتروجين [11]. في عام 2002 استخدمت أشعة ليزر CO_2 على بكتيريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح حيث أوضحت الدراسة إن أشعة الليزر أدت إلى قتل البكتيريا المرضية وإعطاء نتائج شفاء سريعة مع مرور الأيام بصورة افضل من استخدام مركبات كيمياوية كعلاج [12]. في عام 2004 اجريت دراسة حول استخدام تاثير اشعة ليزر

هليوم – نيون (He-Ne) ذات الطول الموجي nm (632.8) على بكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* وبوجود المستخلصات النباتية .اثبت الدراسة ان تسليط اشعة الليزر وبوجود مستخلصات نباتية قد أثرت على (DNA) الخلية [13]. في عام 2005 اجريت دراسة حول استخدام ليزر ذي طاقة واطئة كعلاج Low Level Laser Therapy (LLLT)على الجروح المصابة بالبكتيريا أدت الى شفاء سريع للجرح وبعد قتل البكتيريا فضلا عن استخدام نفس الأشعة على جروح من نوع آخر كالحروق ,جروح البتر وجروح الزروع الجلدية وهذا الشفاء لتلك الجروح شجع على تطبيقات أخرى كجروح عديدة أخرى تصيب الإنسان [14]. في عام 2006 استخدمت أشعة ليزر (Nd:YAG) على البكتيريا المرضية المصابة بها قناة جذر السن , تبين إن (99.7%) من البكتريا المعرضة لأشعة الليزر في قناة الجذر للسن تم قتلها [15] .

2- *Pseudomonas aeruginosa*

إن النشأة الحقيقية لعلم الأحياء المجهرية وبالذات علم البكتيريا بدأت على شكل موضوع علمي في أواسط القرن التاسع عشر , ومن نتاجات البحوث التي قام بها العالم لويس باستور [23]. تكون البكتيريا *Pesudomonas aeruginosa* وبكتيريا *Escherichia coli* اغلب الكائنات شيوعا في تلوث وحدات الحروق [16] ، كذلك البكتيريا *Staphylococcus faecalis* و-β haemolytic Streptococcus , فقد تم عزل أيضا من الجروح بأقل تكرار من *Staphylococcus aureus*[17] كما تعد بكتيريا β-haemolytic Streptococcus ذات إصابات كبيرة في الأطفال حديثي الولادة [18] .

3- تفاعل أشعة الليزر مع المادة الحية

إن تأثير أنواع الليزر على المادة الحية تعتمد بصورة عامة على الطول الموجي ,الطاقة الخارجة من الليزر , وفترة التعرض للأشعة فضلا عن استخدام الليزر على شكل نبضي او مستمر ، بينما البكتريا تتتاثر بدورها بهذه المؤثرات بالاعتماد على الحالة الفسلجية للبكتريا , التنوع في المستعمرات البكتيرية فضلا عن طبيعة البيئة التي تحدث فيها هذه العملية , لكن المؤثر المهم هو التوصيل الحراري والدالة الحامضية (pH) [19] . أما بالنسبة للقدرات العالية التي تصل إلى $10^{16}W/m^2$ إن هذه العملية ليست ذات تأثير حراري واضح ، حيث ان كثافة القدرة العالية الساقطة على سطح البكتريا تتسبب في توليد إلكترونات حرة ناتجة من تأين ذراته او جزيئاته ، وتنتشر داخل البكتريا مولدة موجات صدمية shock wave , ان هذه الآلية مهمة في تفتيت وتكسير الجلطات الكلسية او في تفتيت الأحجار الصغيرة التي لا تفيد معها تقنيات التبخر او الرفع [20] .أما بالنسبة للمادة الحية (البكتريا) فإنها تكون ملونة بسب احتوائها على بعض المجاميع الفعالة التي لها القابلية على امتصاص أشعة ذات أطوال موجية محددة . وتعرف هذه المجاميع الفعالة التي تمنح المواد ألواناً معينة بالكروماتوفورات (حامل اللون) ان معظم هذه المجاميع الحاملة للون تحتوي على اواصر غير مشبعة مثل C= C , C=O, N=N . وأثناء الامتصاص يتم نقل طاقة الفوتونات للاشعة الى البكتريا وهذا يؤدي الى زيادة درجة الحرارة وكذلك كسر الأواصر بهذا تتحول الطاقة الضوئية الى الطاقة حرارية [21] . لدرجات الحرارة تأثير كبير على الانظمة البايولجية من ضمنها البكتريا ففي كل درجة الحرارة تأثير على حالة من حالات البكتريا [22] .

4- الاجهزة و المواد المستخدمة في البحث :

1- جهاز دايود ليزر 2- الحاضنة 3- الموصدة 4- صفيحة كهربائية 5- ساعة توقيت 6- مجهر

متحرك Traveling microscope 7- كاميرا 8- اكار الدم 9- ماكونكي أكار 10- ماء مقطر 11- دم 12- دوارق وبيكرات حجمية 13- مصباح بنزن 14- اطباق زجاجية 15- قطن 16- ماسحة قطنية معقمة 17- شراج 18- حوامل 19- عدسة

5- تهيئة العينات للتشعيع

5-1- تحضير الوسط الزرعي

A- وضع gm (20) من ماكونكي اكار و لتر من الماء مقطر في دورق , يرج الخليط حتى يتجانس وبعدها يوضع على الصفيحة الكهربائية الساخنة حتى يغلي , ثم نغلق فوهة الدورق بالقطن ووضعه في الموصدة (Autoclave) للتعقيم { بدرجة حرارة ^{O}C(121) وتحت ضغط جوي (15) باون لمدة min. (15) } , تترك لتبرد وتصب في الأطباق الزجاجية المعقمة ويترك حتى يتصلب , ويحفظ في ثلاجة بدرجة حرارة ^{O}C4 .

B- يذاب gm (20) من Blood Agar في لتر من الماء مقطر في دورق , يرج الخليط حتى يتجانس وبعدها يوضع على الصفيحة الكهربائية الساخنة حتى يغلي , ثم يغلق فوهة الدورق بالقطن يوضع في الموصدة (Autoclave) للتعقيم { بدرجة حرارة ^{O}C (121) وتحت ضغط جوي (15) باون لمدة.min(15) } , تترك لتبرد وتضاف إلى البيكر الحاوي على الوسط الزرعي دم بنسبة (17%) وتصب في الأطباق الزجاجية المعقمة ويترك حتى يتصلب , ويحفظ في ثلاجة بدرجة حرارة ^{O}C (4) .

5-2- زرع البكتيريا

تم الحصول على(10) عينات من مستشفى تكريت العام عن طريق المسحات من المرضى الراقدين والمصابين بالجروح المصاحبة للحروق . وبعدذلك تم زرع البكتيريا الماخوذة (خليط) عن طريق المسحات في إطباق دم Blood Agar للنمو و ماكونكي أكار للتشخيص ووضع في الحاضنة بدرجة حرارة^{O}C(37) لمدة(24) ساعة .

6- النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج التشعيع بليزر دايود ذي الطول الموجي nm (650) بطاقة mW (120) باستخدام عدسة لامة ذو بعد بؤري cm (10) لتشعيع بكتريا من نوع *Pseudomonas aerugiosa* مباشرة دون استخدام أي من المطهرات أو مضادات حياتية أو صدمات حرارية ان انصاف اقطار مناطق القتل تتناسب طرديا" مع الفترات الزمنية التي تتعرض لها البكتريا ان انصاف اقطار منطقة التشعيع لـ (5,10)min نجدها تزداد انصاف اقطارها ولكن هذه الاقطار لم تكن واضحة جدا في اللوحة وذلك لعدم وجود كامرات حساسة جدا . بان التشعيع للازمان (15,20,25)min واضح لان مناطق القتل كبيرة نسبيا بالنسبة للازمان السابقة فالقتل في هذه المناطق يعود الى اشعة الليزر عندما يسقط على البكتريا تمتص من قبلها وعملية الامتصاص هذه تحول الطاقة الضوئية الى الطاقةالحرارية بالدرجة الاولى حيث تدخل الاشعة الى داخل الخلايا البكتيرية لتزيد من طاقة حركية الجزيئات فضلا عن زيادة درجة حرارة جدار الخلية البكتيرية Bacterial cell wall مما يؤدي إلى تفتت الجدار وخروج المكونات الحية الى الخارج وبالتالي فان الاستمرار بالتعرض للاشعة يزيد قتل البكتريا ثم المستعمرة البكتيرية وهذا مطابق مع ماجاء به الباحث Chateen[23] .

جدول (1) معدل أنصاف أقطار مناطق القتل للعينات

الزمن بالدقيقة	معدل انصاف اقطار منطقة القتل للعينات 10^{-2} * mm
5	0.755
10	1.001
15	1.924
20	2.487
25	3.183

المصادر

1- الامارة ,فارس جاسم محمد ."الليزر أداة التكنولوجيا الحديثة" الطبعة الأولى / وزارة الثقافة والإعلام / دار الشؤون الثقافة العامة / بغداد (1990).

2- Goldman L." The Biomedical Laser, Technology and clinical application " Springer-Verlag , New York,pp.4 ,(1981).

3- القيسي ,عمار هادي . "دراسة استخدام الليزر في قتل عزلات بكتريا مرضية محلية" الجامعة التكنولوجية . رسالة ماجستير(2005).

4- Al-Watar W.M. "Irradiation Effect of Low Energy Laser on the Healing of Alveolar Bone after Tooth Extraction (Experimental Study in Rat)" University of Tikrit.Thesis (2001)

5-Whitehurst C. , Byrne K., Moore J.V."Development of an alterative light source to laser for photodynamic therapy :1.Comparative in vitro dose response characteristics " Laser in Medical Science ;8:259- 267 (1993).

6-John Hicks M. , Flatz C.M., Waterman G. , Berg J.H. , Blankenau R.L., Powll V.L. "Caries like lesion initiation and progression in sound enamel following argon laser irradiation –An in vitro study" Journal of dentistry for children, pp.201 – 206.(1993) .

7-Burns T.,Wilson M.,Pearson G. J."Effect of dentins and collagen on the lethal photosensitization of Streptococcus mutants " Caries Research ; 29:192-97. (1995) .

8- Yasin N.A. "Effect of He-Ne laser radiation and Sodium Hypochlorite disinfectant on the killing of disinfectant resistant Staphylococc aureus isolated from the Wounds" University of Tikrit. Thesis.(1998)

9- بن شبة, عمر . " تأثير ليزري الهيليوم – نـيون النتروجين على حيوية خلايا *Escherichia coli* ودراسة محتواة الوراثي" جامعة بغداد /قسم التقنية الحياتية والهندسة الوراثية. رسالة ماجستير (2000) .

10- Warriner K., Rysstad G., Murden A., Rumsby D.,Thomas D. and Waites W.M."Inactivation of Bacillus subtilis spores on packaging surfaces by u.v. Vol.88 issue excimer laser irradiation" Journal of Applied Microbiology 4:678 (2000)

11- باقر عبد الواحد, طلفاح نافع عبد اللطيف , نور الدين أسيل " دراسة تأثير فيض ليزري النتروجين وثاني اوكسيد الكاربون في قتل وتطفير أربع عزلات محليـة من البكتريا الامراضية " جامعة بغداد/معهـد الليزر والبلازما (2002) .

12-Pinheiro A.L.,Neves J.C.,Costro J.F.,Santos J.Z., Desena K.X.,Brugner A.,Zanin F.,Oliveria M. "Comparison of the effect of the CO_2 laser and chlorohexidine on the Decontamination of Infected coetaneous wounds : A Histological study in rats " Vol.20, No.3:123-127 .(2003). 13- Al-Hayali R.A.G. " Microbiological study of the effect of He-Ne laser (632.8)nm and plants extract on some bacteria " University of Baghdad . Thesis .(2004).

Theropy 14- Hawkins D., Houreld N., Abrahamse H."Low-Level Laser modality for delayed wound healing" (LLLT) as an effective Therapeutic Natural products and molecular therapy Vol.1056 PP.486- 493. (2005) .

15- Bergans L., Moisiadis D., Teughels W., Van Meerbrrk B., Quivyaen,M., Lambrachts P. " Bactericidale effect of Nd –YAG laser irradiation on endodontic pathogens ex vivo ".International Endodntic. journal .Vol. 39 ,pp. 547 (2006) .

16 – عزيز, جبرائيل برصوم " بايولوجية الخلية " الطبعة الثانية / وزارة التعليم العالي والبحث العلمي /جامعة بغداد (2000) .

17- Ayoub N.S."Epiedemiologcal marker of Psudomonase aeruginosa ingeneral hospital (in Baghdad) " University of Baghdad .Thesis .(1981) .

18 -Al-Jebouri M.M.,Al-Rahaley I.M. "An assessment of antibiotic resistance and resistotyping of Escherichia coli from stool of in fection " Chemother ;3:119-121 .(1991).

19- الجبوري , محيميد مد الله ." علم البكتريا الطبية " دار الكتب للطباعة والنشر, جامعة الموصل(1987)

20- Wilson M. " Photolysis of oral bacteria and its potential use in the treatment of caies and periodontal disease " Journal appl. bacterial , 75:299-306 (1993) .

20- معلة , ميادة خزعل جعفر" تأثير أشعة الليزر على ألأنسجة البايولوجية " جامعة بغداد . رسالة ماجستير(1992).

21- Kandela ,Siham A. "Laser physics in medicine" public of Iraq Saddam College of Medicine (1991).

22-Al-Qalamjy , Balsam Mohammed Marden " The use of Nd:YAG laser radiation for the removal of intracanal debris and smear layer in extracted human teeth "University of Baghdad .Thesis (2001) .

23-Chateen Izadeen Ali "the effect of laser ,photochemical agents and thermal stress on some virulence factor of *Staphylococcus* aureus isolated from wounds " University of Tikrit. Thesis.(1999)