

第四军医大学

硕士学位论文

半导体激光治疗仪的研制及对细菌作用的初步研究

姓名：杨小燕

申请学位级别：硕士

专业：生物物理学

指导教师：杨继庆

20060501

独创性声明

秉承学校严谨的学风与优良的科学道德，本人声明所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，不包含本人或他人已申请学位或其他用途使用过的成果。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了致谢。

申请学位论文与资料若有不实之处，本人承担一切相关责任。

论文作者签名：杨小燕 日期：2006.5.30

保护知识产权声明

本人完全了解第四军医大学有关保护知识产权的规定，即：研究生在校攻读学位期间论文工作的知识产权单位属第四军医大学。本人保证毕业离校后，发表论文或使用论文工作成果时署各单位仍然为第四军医大学。学校可以公布论文的全部或部分内容（含电子版，保密内容除外），可以采用影印，缩印或其他复制手段保存论文。学校有权允许论文被查阅和借阅，并在校园网上提供论文内容的浏览和下载服务。

论文作者签名：杨小燕 导师签名：杨小燕 日期：2006.5.30

缩略语表

缩略语	英文全称	中文全称
DE	Doppler effect	多普勒效应
MIC	Minimal Inhibitory Concentration	最低抑菌浓度
LDT	Laser Doppler Technique	激光多普勒技术
LSCM	Laser Scan Confocal Microscope	激光共聚焦扫描 显微镜
LH	Laser Holography	激光全息技术
SCMC	Single Chip Micro-controller	单片机
OD	Optical Density	光密度
PBPs	Penicillin Binding Proteins	青霉素结合蛋白
MRSA	Methicillin-resistant Staphylococcus aureus	耐甲氧西林金黄 色葡萄球菌
ESBLs	Extended Spectrum β -Lactamase	超广谱 β -内酰 胺酶
MDR	multiple-drug resistance	多重耐药性
PA	Pseudomonasaeruginosa	铜绿假单胞菌

半导体激光治疗仪的研制及对细菌 作用的初步研究

硕士研究生 杨小燕

导 师 杨继庆 教 授

辅导 老师 屈学民 副教授

第四军医大学生物医学工程系, 西安 710032

中文摘要

我国激光技术经过四十多年的努力发展,取得了长足的进步。近年来,医用激光器小型微型化、多波段、长寿命、可靠、高效已成为激光医疗技术的发展方向。国外医用激光仪器发展较快,照射治疗仪应用较广,但价格昂贵,在国内使用受到一定限制。由于弱激光照射治疗疾病已经有很多临床应用,低功率半导体激光也开始较多地应用在临床各科室,常用来治疗各种口腔炎症、鼻炎以及耳部炎症等。国内生产的激光器仍以 CO_2 、He-Ne、Nd:YAG “老三件”为主^[1],临床常用的传统激光器体积庞大、能源消耗高、价格昂贵、操作繁杂,使激光的临床医学应用尤其是弱激光照射治疗疾病的应用受到了很大限制。例如,耳鼻喉科常用激光照射治疗耳、鼻、喉炎症,治疗过程中需要病人严格保持固定姿势较长时间。由于一般激光照射治疗方法疗程长、次数多,病人每天到医院接受治疗,感到极大不便,甚至难以坚持。这就使得激光照射疗法不易大范围推广,从而削弱了激光照射治疗疾

病高疗效的影响力。因此研制微型半导体激光治疗仪以适应日益增长的需要显得尤为迫切。

弱激光对机体组织的刺激效应主要体现为：可以加强局部血液循环、提高免疫功能、调整机能、促进细胞生长、组织修复等^[2]，从而达到治疗疾病的目的。

本课题分为两个部分：1、半导体激光治疗仪的研制；2、半导体激光生物效应实验。

课题目的：

1、设计开发出针对临床照射治疗以及家庭理疗使用的微型智能半导体激光治疗仪，使其克服常用激光器的各种不足，并具有功率调整智能化、体积小型化、价格低廉、操作简单以及安全可靠的优点。

2、初步研究半导体激光照射对细菌的作用机理，通过实验初步论证所研制的半导体激光治疗仪的治疗效果。利用研制的半导体激光治疗仪进行相关实验，希望为低强度半导体激光治疗疾病的机理研究提供一些实验数据。

方法：

1、根据设计要求的仪器体积小、功率连续可调、操作智能化等，确定所设计仪器的各项参数；确定仪器硬件结构，设计电路图；编写程序，烧制芯片；利用 Protel 软件绘制电路原理图，按照图纸在面包板搭建电路，初步实现所要求功能；绘制设计 PCB 电路板，按图纸制作电路板；设计制作仪器面板外壳、购买元器件，依照图纸焊接元器件；功能测试，精度测试；设计制作支架等附件。

2、利用所研制的半导体激光治疗仪进行半导体激光生物效应实验（进行低强度半导体激光照射对细菌生长规律的影响实验、

低强度半导体激光照射对耐药细菌耐药性的影响实验),对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌进行不同时间、不同功率的照射,检测相应结果(OD值和最低抑菌浓度)。

结果:

1、仪器制作完成后对其进行系统功能和精度测试,效果良好。研制出的半导体激光治疗仪操作简单,使用安全。使用人员根据面板按键标称即可进行操作;仪器功率输出范围 1-50mW,功率连续可调,适用于多种不同要求的照射治疗;仪器具有输出监控功能,输出功率精度较高,误差 $<0.3\text{mW}$;仪器实现多路输出,可根据需要同时输出若干路半导体激光同时工作。

2、实验结果显示:低强度半导体激光照射对细菌没有直接的杀死作用,但对其生长规律有一定影响,且因照射强度的不同而呈现刺激和抑制两种情况;低强度半导体激光照射使耐药细菌的耐药强度发生了明显的变化。

结论:

1、本课题所研制的半导体激光治疗仪可以广泛使用于医院和家庭,应用前景十分广阔。

2、半导体激光生物效应实验提示,低强度半导体激光照射治疗炎症等疾病可以使患部血液循环增强、调整机能等,也可能使患部致病菌活性降低,对药物敏感性提高。我们推断,临床应用弱激光照射理疗结合药物治疗疾病时,激光照射在提高局部机体组织免疫功能的同时,可能也使患部致病菌的耐药性降低,从而使药物的疗效更加显著。

关键词 激光二极管;单片机;数字电位器;功率反馈;耐药;
最低抑菌浓度

**Development of Diode Laser Therapeutic Apparatus and
preliminary Study on the effects of irradiation of diode
laser on bacteria**

Candidate for master Yang Xiaoyan

Supervisor Prof. Yang Jiqing

Tutor Dr. Qu Xuemin

Department of physics, the Fourth Military Medical University,
Xi'an 710032, China

Abstract

The rapid development of laser technology is witnessed that laser is extensively used in clinical applications, as well as low power laser, which has been proved the prominent curative effect. By means of the stimulated effect of low power laser for organism, the low power laser irradiation therapy is to improve blood circulation, enhance immunity of persons, readjust organic function, accelerate the growing of cells and promote organic restore. Recent years, the trend of iatrical laser technology is micromation, more wave bands, longevity, safety and high effect. However, the products of domestic laser apparatus give priority to CO₂, He-Ne and Nd:YAG., which are limited by bulkiness, high energy resources consumed, high price and complicated manipulation. Low power laser irradiation is usually used in E.N.T department to treat with the inflammations of ear, nose and throat as an example. The patients must keep immovable poses for a long time during the treatment and also need to come to hospital every day in their treatment period. It's easy for them to feel inconvenient and even to give up this kind

of treatment. As a result, laser irradiation treatment is hardly popularized in clinical applications. Thus, to explore the subminiature diode laser therapeutic apparatus is imperative under this situation.

There are two parts in this paper: 1 the development of diode laser therapeutic apparatus; 2 the experiments of diode laser's irradiation's biologic influence.

Object:

1. Develop a tunable diode laser therapeutic apparatus using in clinical and family, which has many advantages such as small, cheap, simple operated, safe and so on, to conquer the shortages of common used laser apparatus.

2. Theoretical and experimental researches were introduced in this dissertation. The aim of these researches was to explore the mechanism concerning the low power diode laser irradiation therapy and to provide some useful data for other studies according to the experiments of the influence of bacteria's generations and medicine resistant bacteria.

Methods:

1. Through referring to literatures, learning knowledge of hardware and software, the parameter of the apparatus and the hardware configuration were ascertained at first. Aboratively took every step in designing circuit diagram, compiling with program, firing the CMOS chip, building circuit diagram on breadboard, producing PCB board, designing apparatus's face board, purchasing the electric elements and welding them on the PCB board, testing system and designing support brace at last.

2. Coil, staphylococcus aureus and pseudomonasaeruginosa were irradiated by diode laser with different time and power. And

then, the OD and minimal inhibitory concentration were measured.

Result:

1. The test for the apparatus was very well at its system functions and accuracy. The output- power range was 1 to 50mW and the power was consecutive and regulable. The diode laser therapeutic apparatus we have made has such advantages as easy manipulation, safety, high precision, $<0.3\text{mW}$ and monitored outputs. It also has several parts to work in the same time.

2. It's showed by the experiments that low power diode laser produced some influence for the bacteria, even though it couldn't kill the bacteria. According to the difference of irradiating power, the influences were stimulation and restrain. Meanwhile, the other experiment's result showed that resistant medicine bacteria's minimal inhibitory concentration changed apparently.

Conclusion:

1. The diode laser therapeutic apparatus has a wide prospect in the future because of the utilizing in hospital and family.

2. It's suggested in the experiments that low power diode laser irradiation can reduce the bacteria's activity and increase the MIC in the treatment with inflammation. We can deduce that the curative effect will be better by utilizing diode laser irradiation connection with medicine treatment because while enhances the immunity of tissues, it reduces the bacteria's medicine resistance.

Key words laser diode; single chip microcomputer; digital resistance; power feedback; medicine resistance; MIC

前言和文献回顾

前言

经过几十年的研究, 半导体激光器已经得到了惊人的发展, 它的波长从红外、红光到蓝绿光, 覆盖范围逐渐扩大, 各项性能参数也有了很大的提高。半导体激光器的制作技术^[3]经历了由扩散法到液相外延法 (LPE), 气相外延法 (VPE), 分子束外延法 (MBE), 金属有机化合物汽相淀积方法 (MOCVD), 化学束外延 (CBE) 以及它们的各种结合型等多种工艺^[4]。其激射阈值电流由几百 mA 降到几十 mA, 直到几 mA, 其寿命由几百到几万小时, 乃至百万小时。从最初的低温 (77 K) 下运转发展到室温下连续工作, 输出功率由几毫瓦提高到千瓦级 (阵列器件)。它具有效率高、体积小、重量轻、结构简单、能将电能直接转换为激光能、光电转换效率高 (已达 10% 以上, 最大可达 50%), 便于直接调制、省电等优点, 因此应用领域日益扩大。目前, 固定波长半导体激光器的使用数量居所有激光器之首, 很多重要的应用领域过去常用的其他激光器, 已逐渐为半导体激光器所取代。半导体激光器最大的缺点是: 激光性能受温度影响大, 光束的发散角较大 (一般在几度到 20 度之间), 所以在方向性、单色性和相干性等方面较差。但随着科学技术的迅速发展, 半导体激光器的研究正向纵深方向推进, 半导体激光器的性能在不断地提高。目前半导体激光器的功率可以达到很高的水平, 而且光束质量^[5]也有了很大的提高。

半导体激光器是以直接带隙半导体材料构成的 PN 结或 PIN

结为工作物质的一种小型化激光器。半导体激光工作物质有几十种^[6]，目前已制成激光器的半导体材料有砷化镓(GaAs)、砷化铟(InAs)、锑化铟(InSb)、硫化镉(cds)、碲化镉(CdTe)、硒化铅(PbSe)、碲化铅(PbTe)、铝镓砷(AlGaAs)、铟磷砷(InPAsI)等。半导体激光器的激励方式主要有三种^[7]，即电注入式、光泵式和高能电子束激励式。绝大多数半导体激光器的激励方式是电注入，即给PN结加正向电压，以使在结平面区域产生受激发射，也就是说是个正向偏置的二极管。因此半导体激光器又称为半导体激光二极管。对半导体来说，由于电子是在各能带之间进行跃迁，而不是在分立的能级之间跃迁，所以跃迁能量不是个确定值，这使得半导体激光器的输出波长展布在一个很宽的范围上。它们所发出的波长在 $0.3\sim 34\mu\text{m}$ 之间。其波长范围决定于所用材料的能带间隙，最常见的是AlGaAs双异质结激光器，其输出波长为 $750\sim 890\text{nm}$ 。

激光在医学上的应用主要可分为两方面，一方面是运用激光的光谱技术、干涉技术以及其他光学技术应用于临床标本或组织的检测和诊断。如利用激光多普勒技术^[8](Laser Doppler Technique)、激光共聚焦扫描显微镜^[9](Laser Scan Confocal Microscope, LSCM)、激光全息技术^[10](Laser Holography)等进行临床检测和诊断，使临床诊断的准确程度提高了一大步。另一方面是利用激光对机体组织的生物效应致力于临床治疗的开发与实践。在激光生物作用过程中，通常首先发生物理和化学方面的变化，如光能转化为热能、化学能和机械能等，机体各层组织在

吸收激光能量后,可产生光致热效应、光致化学效应、电磁场效应和光致压强作用等,这些作用是激光医学应用的物理基础。

半导体激光可以连续或脉冲形式输出,波段范围为390nm~8500nm,功率从几毫瓦到上百瓦,小功率可用于血管或体外照射,大功率则可用于外科手术。生物组织吸收半导体激光能量后将其光能转变成热能,在此过程中因热反应所致的局部组织效应程度不同而又有不同的应用。可分为:组织焊接、组织切割、照射与理疗等。随着半导体技术的发展,半导体激光器体积越来越小,毫无疑问,这必然为激光医用仪器的微型化拓宽道路。而仪器的微型化又必然使相关疾病治疗和实验研究更加方便、高效。

文献回顾

激光照射对机体组织可产生多种生物效应。根据激光作用所引起的组织反应,医用激光可分为强激光与弱激光^[11],都在生物医学和临床医学方面得到了广泛的应用。激光照射对生物产生的效应主要包括热效应、压强效应、光化效应、电磁场效应、生物刺激效应等。临床医学利用强激光的热效应直接汽化清除病变组织而达到治疗的目的;利用弱激光的生物刺激效应调整机体的免疫系统、神经系统、血液循环系统以及组织代谢等系统,使之病理状态恢复正常^[12]。而随着物质生活水平的提高,人们对身体保健理疗的关注也越来越多,对医用保健仪器的需求不断上升,低强度半导体激光的应用必然随之愈加广泛。

弱激光与半导体激光临床应用现状

弱激光亦称为低强度激光,弱激光的治疗效果已被公认。低强度半导体激光相对于其他激光而言,在治疗效果上有其自身的

优点和特点。

低强度半导体激光在口腔科的照射应用较早也较广泛。对于急性根尖炎、急性冠周炎、干槽症、根充后疼痛、口腔溃疡、糜烂型扁平苔藓、颞颌关节功能紊乱、牙龈炎、牙本质过敏等等各种口腔疾病，半导体激光都有应用^[13]。另据文献报道，低强度半导体激光照射治疗对口腔科常见的慢性疾病也有着较好的疗效，总有效率可达 86.25% 以上。杨淑兰、张洁^{[14][15]}等在文献中比较了低强度半导体激光和 He-Ne 激光照射治疗五官科疾病的疗效，半导体激光治疗有效率明显高于 He-Ne 激光治疗有效率。沈国荣、金文潮^[16]等在波长 830nm 半导体激光防龋实验中得到结论：实验组龋坏率（5.5%）远小于非照射组（24%），故半导体激光防治龋齿也是一种有效、安全，值得继续发展研究的治疗方法。

与 Er 激光、CO₂ 激光、Ho 激光等激光相比，半导体激光对人组织穿透较深，可引起较深层组织的生物效应。杨中伟^[17]对比了 632.8nm 的 He-Ne 激光和 650nm-810nm 双波长半导体激光在耳鼻喉科疾病中的疗效，前者总有效率 91.4%，后者总有效率 96% 以上。叶美云、陈荣利^[18]用 650nm 的半导体激光对各种鼻炎照射治疗，输出功率 20-60mW，总有效率达 97.5%。其中，对急性鼻炎、慢性单纯性鼻炎，疗效最为显著；过敏性鼻炎及慢性肥厚性鼻炎次之；萎缩性鼻炎疗效稍差。另外，目前国内外临床医务工作者对中耳炎的治疗，主要是依其临床症状进行对症处理，广泛采用咽骨管吹张、鼓膜穿刺抽液或鼓膜切开引流等，再以各种抗菌药物为主进行治疗，病症严重者行手术治疗^[19]。但这两种治疗效果并不令人满意。从激光照射治疗少数中耳炎患者的病例中可以看出，结合激光治疗的疗效明显好于目前临床的常规治疗。

因此,对中耳炎进行半导体激光治疗无疑是一种理想的治疗方法。目前采用的多为 He—Ne 激光 (波长 632.8nm, 功率 6mW—30mW), CO₂ 激光, Nd: YAG 激光等耳科常用激光。半导体激光在此领域的应用比较少。但根据半导体激光的特点和现有资料可以得到利用半导体激光生物效应照射治疗耳科疾病的疗效要好于其他常用激光^[20]。

眼科应用较多的主要是光凝治疗。眼睛不同组织对不同波长的吸收率差别很大, 半导体激光波长范围宽, 因此选择时应根据组织的不同而选择相应的波长^[21]。Scott A. Pastor MD^[22]在对眼科光凝的回顾研究中指出, 半导体激光穿过巩膜光凝效果与 Nd: YAG 激光相比无显著差异, 因此可以替代之。司马晶^[23]比较了半导体激光与氩激光, 指出半导体激光穿透力较强, 作用位置较深, 尤其对黄斑区的病变及中心凹下脉络膜新生血管等, 具有保留有限的中心视力的优点。Edoardo Midena^[24]等利用 810nm 半导体激光经瞳孔照射温热疗法对眼底恶性黑色素瘤的检测和治疗进行了初步探讨, 提示这可能是一种治疗脉络膜黑色素瘤的新方法。He-Ne 激光血管内照射治疗发展已有十多年, 用以治疗一些缺血性疾病^[25], 如: 高脂血症、高粘血症、高血压, 脑血栓后遗症, 心脑血管供血不足, 冠心病, 动脉硬化, 脑梗塞, 脑中风, 心绞痛, 心肌梗塞等疾病, 效果非常好。近年来, 半导体激光血管外照射治疗此类疾病的研究应用也逐渐增多。半导体激光血管外照射治疗和药物治疗效果相比, 半导体激光血管外照射治疗能降低血液流变学的多项指标^[26], 并且与药物治疗相比有显著差异; 与 He-Ne 激光血管内照射相比则无显著差异 (数据相近)。但半导体激光血

管外照射更具优势，它在治疗过程中不需刺破皮肤、血管，因此操作、应用都优于 He-Ne 激光血管内照射。在治疗疼痛性疾病方面，激光照射治疗对疼痛有比较明显的缓解作用^[27]。于建敏等^[28]指出，半导体激光能透过皮肤进入组织深处，可直接作用于感觉神经末梢，降低末梢神经的兴奋性，从而提高疼痛的阈值。Eiichi Sakuraba, Akiko Sekine^[29]等研究和评估了连续波和脉冲式半导体激光对疼痛缓解的疗效，指出半导体激光对疼痛缓解有明显作用^[30]，而且当输出总能量相同时，脉冲激光照射对表面的麻痹比连续激光照射更有效。此外，半导体激光器照射治疗糖尿病性溃疡^[31]、皮肤创伤、神经衰弱、小儿肺炎、脑梗死、心肌梗塞、等疾病的应用都有报导^{[32][33][34]}。半导体激光穴位照射与常规治疗相结合在许多疾病的治疗上都得到了满意的效果。

微型半导体激光治疗仪及弱激光治疗疾病机制研究现状

低强度半导体激光照射机体组织是一种有效、安全的治疗方法。由于半导体激光器体积小、重量轻，因此，小型半导体激光治疗仪的研制生产也越来越多。目前国内生产研制的低功率半导体激光治疗仪以鼻腔、口腔以及妇科照射治疗为主，如报道的深圳天基权科技 SLT 半导体激光治疗仪，采用波长为 650 纳米的低强度激光，通过鼻腔照射达到降低血粘度的治疗效果^[35]。也有专用于口腔照射治疗的，如海奥圣半导体激光治疗仪^[36]，输出功率：1~5mW。此外，国外也有研制便携式激光治疗仪用于治疗青光眼^[37]。这些半导体激光治疗仪与传统激光治疗仪器相比有一定优势，方便了疾病的治疗。但同时，这些半导体激光治疗仪普

遍的不足是：治疗方法单一，输出半导体激光功率固定或仅有若干个档位，并且大部分输出功率偏小。如前所说 SLT 半导体激光治疗仪输出功率固定，且仅为 $4\text{mW} \pm 0.3\text{mW}$ 。此外，国内外还未见报道有专用于耳部治疗，如中耳炎治疗的半导体激光治疗仪。因此，研制治疗耳鼻喉科的专用治疗器械——半导体激光治疗仪是非常必要且急需的。

一直以来，人们探讨弱激光照射治疗疾病的机理，在器官、细胞、分子水平上都做过不少研究^{[38][39]}，但尚未真正明确。另一方面，激光对细菌的生物效应也有研究，但也还未有明确定论。近年来，由于抗生素的过多使用，临床耐药菌株逐年增多，给疾病的治疗带来很大困难。较早有报道，He-Ne 激光照射可增大某些细菌的抑菌直径^[40]，报道实验中所用激光功率较大，达到 80mW ，但此功率偏大，在临床应用中易造成患者损伤，安全性低。因此，在实际的一些临床应用中所使用的激光功率较小（一般小于 50mW ）。本课题实验中所使用的半导体激光功率大小为耳鼻喉科常用的几种功率。实验首先照射大肠杆菌，观察激光照射对其生长规律的影响，再对耐药菌株进行不同程度的照射，检测经半导体激光照射前后抗生素对耐药菌株的最低抑菌浓度（Minimal Inhibitory Concentration, MIC）的变化情况，为进一步探讨弱激光对耐药细菌的作用和治疗疾病机理提供一些实验数据。

正 文

1. 半导体激光治疗仪的研制

半导体激光治疗仪主要是针对弱激光照射治疗领域而设计的低功率半导体激光治疗、理疗仪器, 适合临床照射治疗、家居理疗保健使用。因此, 在半导体激光治疗仪的设计上首先要求半导体激光输出功率精确, 对病患的使用安全系数高。其次, 要求仪器体积小、携带方便。这样才可能使其在医院、家庭得到最大范围的推广使用。第三, 设计输出激光功率连续可调。以往的半导体激光治疗仪不能达到功率连续可调的功能, 治疗疾病的范围受到一定限制, 本课题设计的半导体激光治疗仪输出功率为1~50mW 连续可调, 可应对不同程度疾病的需求。第四, 仪器操作简单、人性化, 达到方便使用者的目的。

低强度半导体激光治疗仪的研制设计论述如下。

1.1 系统概述

半导体激光治疗仪, 工作物质砷化镓 (GaAs)。输出波长为650nm 的红色半导体激光, 其输出采用数字技术精确控制, 输出功率精度比较高 (误差 $\leq \pm 0.5\text{mW}$)。仪器输出功率在1-50mW 之间, 并且连续可调, 工作时间、方式, 输出大小均实现数字控制, 使用者可根据具体情况灵活设置。仪器系统内暂限制最长工作时间为60 分钟, 外部激光输出头可配置有耳、鼻等固定支架, 不仅可以用于专门照射治疗中耳炎等耳科疾病, 还可以照射治疗鼻、喉、口腔等部位, 使用非常方便、灵活。

1.2 硬件结构

1.2.1 系统框图

仪器系统主要由电源、电源控制、单片机控制系统、激光二极管驱动系统以及激光二极管组成。电源分别为单片机和激光二极管驱动供电, 同时单片机系统又对激光电源进行控制, 使得激光二极管的供电可根据需要设置和调节。单片机系统控制激光二

极管驱动系统,对激光二极管的输出功率、工作时间等调节控制。激光二极管驱动系统将激光二极管的反馈电流经过转换输入单片机控制系统。仪器系统原理框图如图 1 所示。

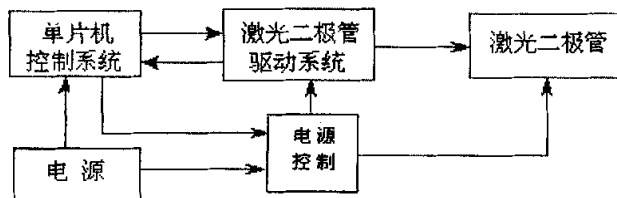


图 1 半导体激光治疗仪系统框图

1.2.2 激光二极管

半导体激光二极管 (Laser Diode) 体积小、发光效率高、能量集中,单色性比较好 (一般带宽在几 nm)。它的基本结构为:垂直于 PN 结面的一对平行平面构成法布里——珀罗谐振腔,它们可以是半导体晶体的解理面,也可以是经过抛光的平面。其余两侧面则相对粗糙,用以消除主方向外其它方向的激光作用。半导体中的光发射通常起因于载流子的复合。当半导体的 PN 结加有正向电压时,会削弱 PN 结势垒,迫使电子从 N 区经 PN 结注入 P 区,空穴从 P 区经过 PN 结注入 N 区,这些注入 PN 结附近的非平衡电子和空穴将会发生复合,从而发射出波长为 λ 的光子,

$$\lambda = hc/E_g \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中: h —普朗克常数; c —光速; E_g —半导体的禁带宽度。上述由于电子与空穴的自发复合而发光的现象称为自发辐射。当自发辐射所产生的光子通过半导体时,一旦经过已发射的电子—空穴对附近,就能激励二者复合,产生新光子,这种光子诱使已激发的载流子复合而发出新光子现象称为受激辐射。如果注入电流足够大,则会形成和热平衡状态相反的载流子分布,即粒子数反转。当有源层内的载流子在大量反转情况下,少量自发辐射产生的光子由于谐振腔两端面往复反射而产生感应辐射,造成选频谐振正反馈,或者说对某一频率具有增益。当增益大于吸收损耗时,就可从 PN 结发出具有良好谱线的相干光——激光。激光二极管

为电流型元件，当输入电流大于其阈值时激光二极管开始发光，当输入达到工作电流时即输出额定功率。

常用医用照射理疗激光功率一般在 3—50mW，因此，设计者可根据需要的最大功率选用不同型号的管子。通常，低功率激光二极管有三条引脚，管内还封装有一个光电二极管，用于监控激光管工作电流。普通低功率激光二极管的外形如图 2 所示。

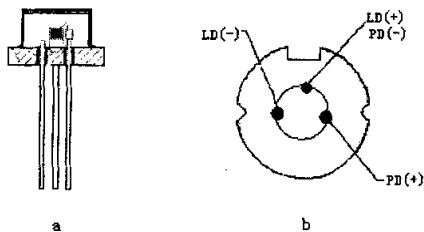


图 2 激光二极管外形：a 侧剖图，b 底视图

本课题所研制仪器，系统设计输出的最大功率为 50mW。考虑到输出激光经透镜等部件会有部分衰减，因此系统所采用的激光二极管参数为：额定功率 55mW、红色激光、波长 650nm、阈值电流 60mA、工作电流 130mA。同时，考虑到系统的可扩展性，仪器外壳设计有多个输出接口，可同时配置若干个激光二极管，实现多部位同时照射治疗。

1.2.3 激光二极管驱动系统

在激光二极管的应用中，由于存在自身发热以及环境温度等因素影响，激光二极管的实际输出功率容易受到较大影响而发生波动，这样不但直接影响仪器的治疗效果，也影响激光二极管的使用寿命。因此，设计合适配套的激光二极管驱动系统，使激光二极管输出功率保持平稳、准确非常重要^{[41][42]}。综合考虑各种因素，如效率、性能、价格等，本系统采用了分立元件设计串联稳流电路作为激光二极管驱动电路，稳定、耐用并且容易实现^{[43][44][45]}。

串联稳流电路其基本原理可以用图 3 所示的方框图表示。整个稳流系统是一个负反馈大闭环。取样电阻 R_s 的阻值比放大环

节的输入电阻小得多，所以几乎全部负载电流 I_L 通过 R_s 。因为 R_s 的阻值是恒定的，因此 R_s 上电压降的大小便直接反映出负载电流的大小。于是，要获得恒流输出，只需稳定 R_s 上的电压降 U_s 即可。

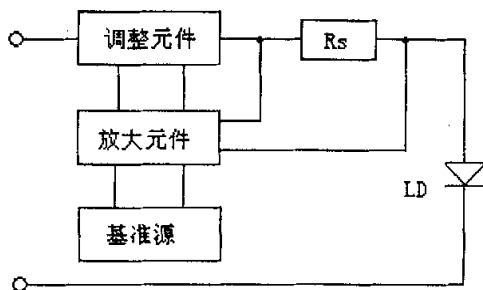


图 3 串联稳流电路方框图

电路原理简图如图 4 所示。稳定的电源电压经电阻 R_2 分压后，经过电压跟随器 A_2 送到 A_3 的同相端作为基准电压。自动调整过程如下：若流过 R_s 的电流 I_L 增大，则 A 点电位下降，使得 A_3 的输出增大，从而使 A 点电位上升， I_L 减小。反之亦然，从而达到恒流的目的。由于放大器的放大倍数很大，因此反相端电压近似等于基准电压。调节 R_2 改变基准电压，可以方便地调节恒流源的输出电流。

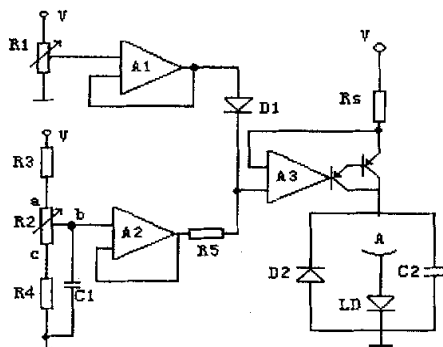


图 4 半导体激光二极管驱动系统原理简图

如果半导体激光器的驱动电流超过其损坏阈值电流，很容易

导致半导体激光器的损坏，因此我们在驱动电路中增加了电流限制功能。由于输出电流是可调的，这就要求限制电流也应是可调的。图 4 中调节 R1 即可调节限制电流的大小。如前所述，恒流源的输出电流是受主放大器 A3 同相端的电位控制的，此点电位越小，则输出电流越大。放大器 A1 的作用是限制 A3 同相端的最小电位。若此点电位过小，二极管 D1 导通，则此点电位将由放大器 A1 的输出决定，从而为 A3 的反相端设置了一个最小电压，也就是设置了一个最大输出电流。电容 C2 的作用是滤掉流过半导体激光二极管电流波形上的高频干扰，避免半导体激光器由于高频干扰受到损坏。二极管 D2 的作用是避免半导体激光二极管两端受过大的反向压降。

1.2.4 单片机控制系统

仪器控制系统采用单片机核心控制^[46]，完成对其输入设置、显示、治疗时间、输出功率等功能。同时，为确保输出功率的稳定性，系统采用了对输出功率的实时检测。单片机通过对预设功率与实际输出功率比对，进行实时调整，确保激光功率的精确输出。原理框图如图 5 所示。

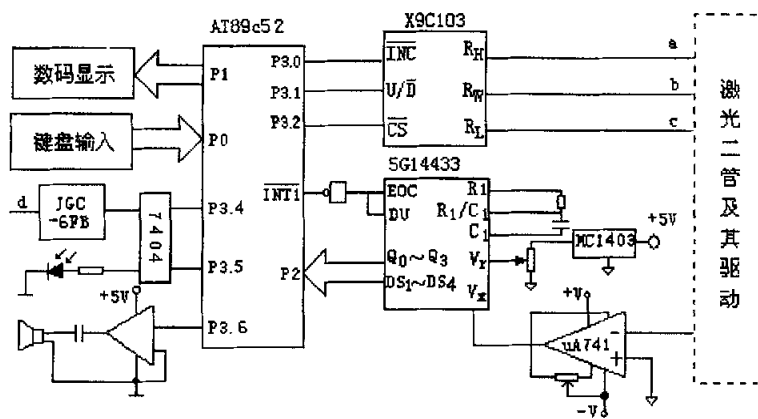


图 5 单片机控制系统框图

1.2.4.1 AT89C52 单片机

单片微型计算机简称单片机。由于它的结构及功能均按工业控制要求设计,因此其确切的名称应是单片微控制器(Single Chip Micro-controller)。本系统采用 AT89C52 单片机作为仪器各部分电路的核心控制单元。AT89C52 是 ATMEL 公司生产的低电压,高性能 CMOS 8 位单片机,片内含 8K bytes 的可反复擦写的只读程序存储器(EPROM)和 256 bytes 的随机存取数据存储器(RAM)。器件采用 ATMEL 公司的高密度、非易失性存储技术生产,与标准的 MCS-51 指令系统及 8052 产品引脚兼容,片内置通用 8 位中央处理器(CPU)和 Flash 存储单元,适合于许多较为复杂控制应用场合。AT89C52 方框图如图 6 所示。

AT89C52 的主要性能参数:

- 与 MCS-51 产品指令和引脚完全兼容
- 8K 字节可重擦写 Flash 闪速存储器
- 1000 次擦写周期
- 全静态操作: 0Hz-33Hz
- 三级加密程序存储器
- 256×8 字节内部 RAM
- 32 个可编程 I/O 线
- 3 个 16 位定时/计数器
- 8 个中断源
- 可编程串行 UART 通道
- 低功耗空闲和掉电模式

Block Diagram

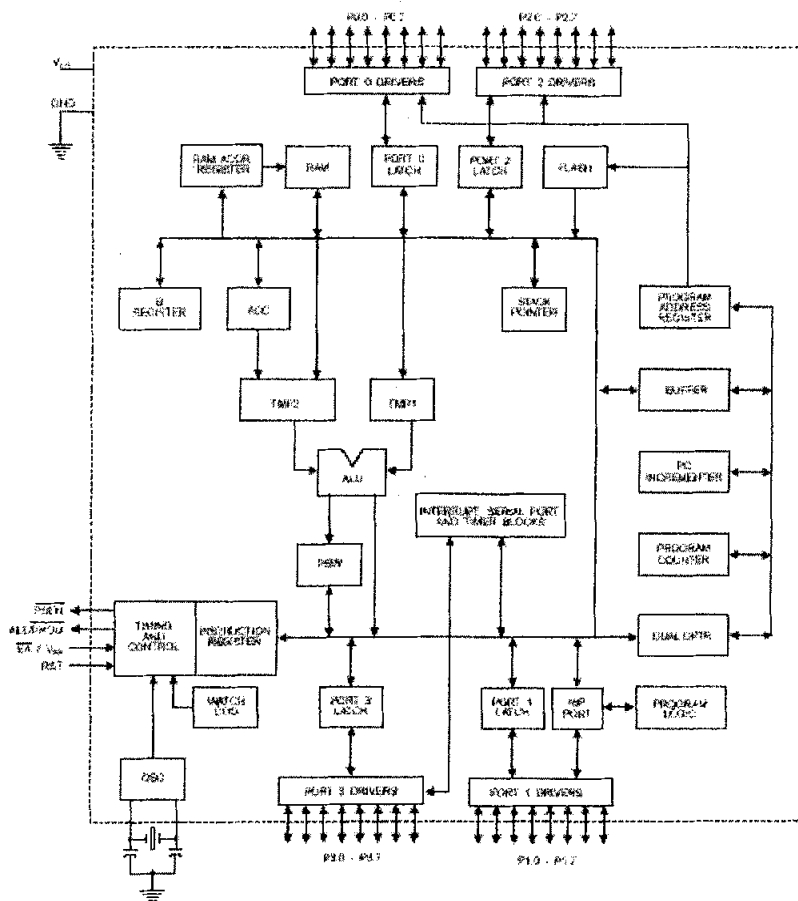


图 6 AT89C52 单片机方框图

半导体激光治疗仪仪器系统中，AT89C52 单片机的 P0 口控制显示多种数据，P1 口控制各个数据参数的输入，P2 口接收 5G14433 模数转换数据，P3.0、P3.1、P3.2 控制数字电位器 X9C103 的正常工作。

1.2.4.2 X9C103 数字电位器

数字电位器一般主要应用于 D/A 转换中^[47]，本系统选用 X9C103 数字电位器作为 D/A 转换的控制信号。

X9C103 是固态非易失性电位器，他们都包含有 99 个电阻单

元的电阻阵列，在每个单元之间和二个端点都有可以被滑动单元访问的抽头点。滑动单元的位置由 CS、U/D 和 INC 三个输入端控制。滑动端的位置可以被存储在一个非易失性存储器中，因而在下一次上电工作时可以被重新调用。图 7 为 X9C103 功能框图。

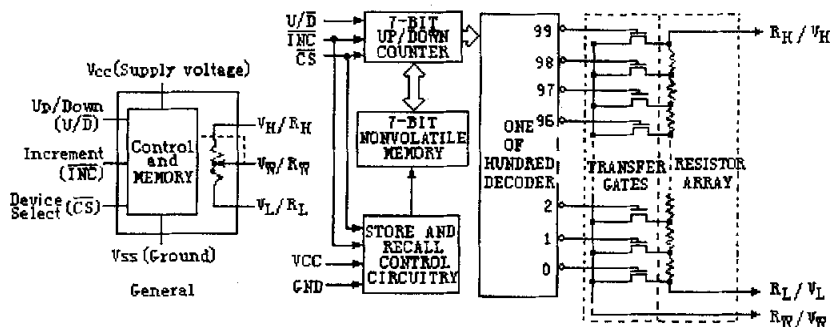


图 7 X9C103 功能框图

X9C103 性能参数：

- 低功耗 CMOS -VCC=3V 至 5.5V，工作电流最大 3mA，等待电流最大 500 μ A
- 99 个电阻单元，有温度补偿， $\pm 20\%$ 端点到端点阻值范围
- 100 个滑动抽头点，滑动端的位置取决于三线接口，类似于 TTL 升/降计数器，滑动端位置存储于非易失性存储器之中，可以在上电时重新调用
- 滑动端位置数据可以保存 100 年

本系统采用数字电位器 X9C103 替代传统驱动电路中的变阻器，与直接采用模数转换方法相比具有简单、精确的优点。其中数字电位器的 RH、RW、RL 端分别对应图 4 中 R2 的 a、b、c 端。

1.2.4.3 5G14433 模数转换器

模数转换模块的功能是将激光二极管输出功率的反馈信号转换成相应的数字信号，然后通过中断方式送入单片机系统进行处理。本系统 A/D 转换器采用精度高、抗干扰性能强，价格低廉的 5G14433 芯片。

5G14433 是国产的 3 位半 A/D 转换器，具有抗干扰性能好，转换精度高（相当于 11 位二进制数），自动校零，自动极性输出，自动量程控制信号输出，动态字位扫描 BCD 码输出，单基准电压，外接元件少，价格低廉等特点。5G14433 的转换速度慢，约 1~10 次/秒，但由于本系统中并不要求高速模数转换，因此采用此芯片非常合适。5G14433 芯片的内部结构框图如图 8 所示

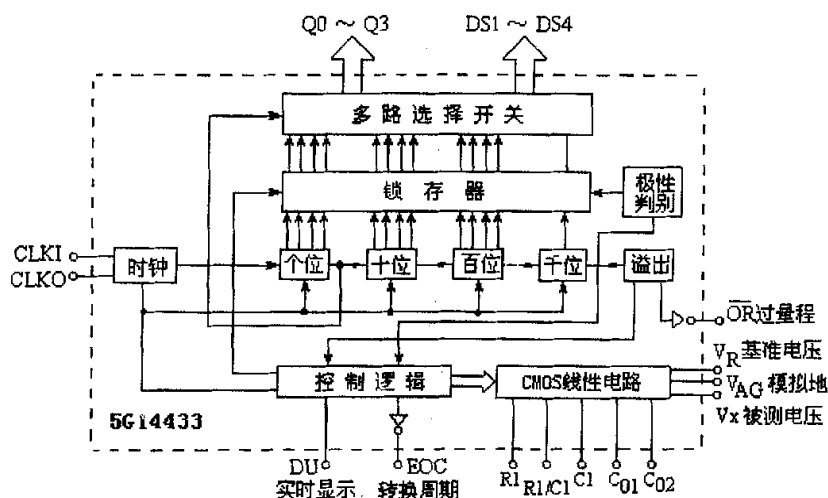


图 8 5G14433 内部结构框图

5G14433 模拟电路部分：基准电压，模拟电压输入，模拟电压输入量程为 199.9mv 或 1.999v 两种，与之相对应的基准电压相应为 +200mv 或 +2v 两种。数字电路部分：逻辑控制，BCD 码及输出锁存器，多路开关，时钟以及极性判别，溢出检测等电路组成。5G14433 采用字位动态扫描 BCD 码输出方式，即千、百、十、个位 BCD 码轮流地在 Q0~Q3 端输出，同时在 DS1~DS4 端出现同步字位选通信号。主要外接器件是时钟振荡器外接电阻 RC，外接失调补偿电容 C0 和外接积分阻容元件 R1，C。

5G14433 特性参数：

- 5G14433 的转换误差为 $\pm 1\text{LSB}$

- 输入阻抗大于 $100\text{M}\Omega$
- 模拟输入电压范围为 $0\sim 1.999\text{V}$ 或 $0\sim \pm 199.9\text{mV}$
- 片内提供时钟发生器，使用时只需外接一个电阻；也可采用外部输入时钟或外接晶体振荡电路
- 片内的输出锁存器用来存放 A / D 转换结果，经多路开关输出多路选通脉冲信号 DS1~DS4 及 BCD 码数据 Q0~Q3。

对 5G14433 进行初始化程序：

```
START: SETB  IT1           ; 选择为边沿触发方式
        MOV  IE, #10000100B ; CPU 开中断，外部中
                                断允许
```

5G14433 外部中断服务程序：

```
INT1: MOV  A, P1
        JNB  ACC.4, INT1    ; 等待 DS1 选通信号
        JB   ACC.0, PER     ; 查是否过、欠量程，是则转 PER
        JB   ACC.2, PL1     ; 查结果正或负
        SETB 77H           ; 负数，符号位置 1
        SJMP PL2
PL1:  CLR  77H             ; 正数，符号位置 0
PL2:  JB   ACC.3, PL3       ; 查千位（1/2 位）数为 0 或 1
                                ; ACC.3=0 时 千位数为 1
        SETB 74H           ; 千位数置 1
        AJMP PL4
PL3:  CLR  74H             ; 千位数置 0
PL4:  MOV  A, P1
        JNB  ACC.5, PL4     ; 等待百位 BCD 码选通信号 DS2
        MOV  R0, #2EH
```

```

        XCHD  A, R0          ; 百位数送入 2EH 低 4 位
PL5:  MOV   A,  P1
        JNB   ACC.6, PL5     ; 等待十位数选通信号 DS3
        SWAP  A              ; 高低 4 位交换
        INC   R0             ; 指向 2FH 单元
        MOV   R0, A          ; 十位数送入 2FH 高 4 位
PL6:  MOV   A,  P1
        JNB   ACC.7, PL6     ; 等待个位数选通信号 DS4
        XCHD  A,  R0         ; 个位数送入 2FH 低 4 位
        RETI                  ; 中断返回
PER:  SETB   10H             ; 置过、欠量程标志
        RETI                  ; 中断返回

```

1.2.4.4 其他

A/D 转换需要外接标准电压源作参考电压，而且标准电压源的精度应当高于 A/D 转换器的精度。如图 5，本系统采用 MC1403 集成精密稳压源，经电位器分压后作为 5G14433 的转换参考电压，MC1403 的输出电压为 2.5V，当输入电压在 4.5~15V 范围内变化时，输出电压的变化不超过 3mV，一般只有 0.6mV 左右，输出最大电流为 10mA。

uA741 放大器，激光二极管反馈信号经 uA741 放大器放大后输入 5G14433 进行模数转换，转换结束信号 EOC 经过非门接入 AT89C52 的 INT1，采用中断方式来读取模数转换数据。AT89C52 的输出控制口 P3.4 控制继电器 JGC-6FB 开关，启动或关闭激光二极管的工作电源，系统工作程序全部结束后扬声器发出嘀嘀声报警提示使用者。

1.3 软件设计

仪器系统软件主要实现的功能包括系统参数设置、实时动态显示、输入输出控制、功率输出补偿等。图 9 所示为系统流程示

意图。

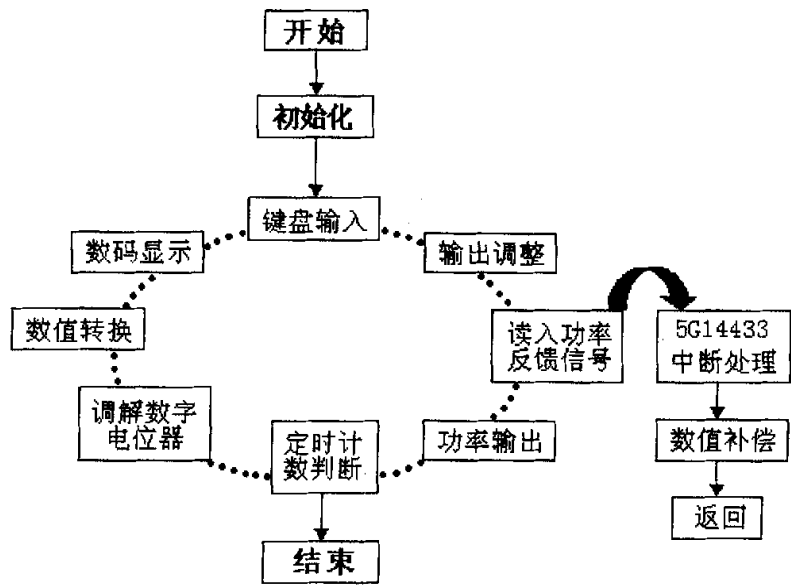


图 9 系统流程框图

1.3.1 参数设置子程序

流程图如图 10 所示。该子程序主要实现半导体激光工作的具体参数设置，以及依据疾病具体情况设置的照射时间、工作方式、输出功率等。单片机 P0 口作为键盘输入 I/O 口，主要读取所输入的参数数据。

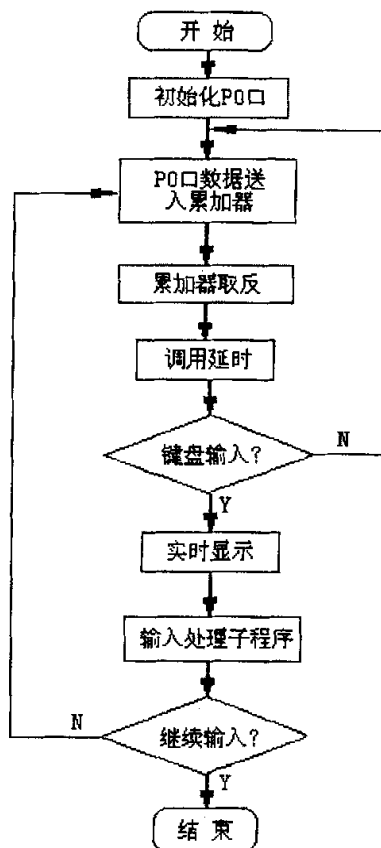


图 10 参数设置子程序流程图

1.3.2 动态显示子程序

流程图如图 11 所示。显示子程序采用动态循环显示，即每次向数码管输入一位显示数据，延时若干毫秒后再向数码管输入下一位数据显示。由于人眼的滞留作用，看到的数据是每一位数码管均有显示数据，从而达到了显示全部数据的效果。

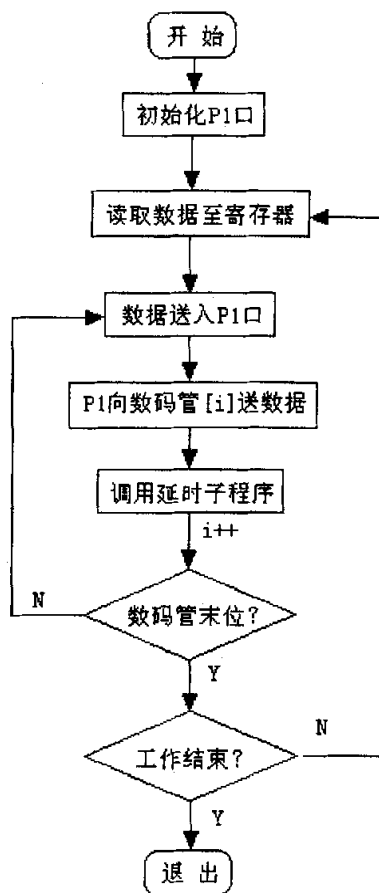


图 11 显示子程序流程图

1.3.3 功率控制子程序

流程图如图 12 所示。该模块最主要的功能是实现反馈数据采集、功率补偿和控制功能。通过该模块实现了仪器输出激光功率的稳定一致。

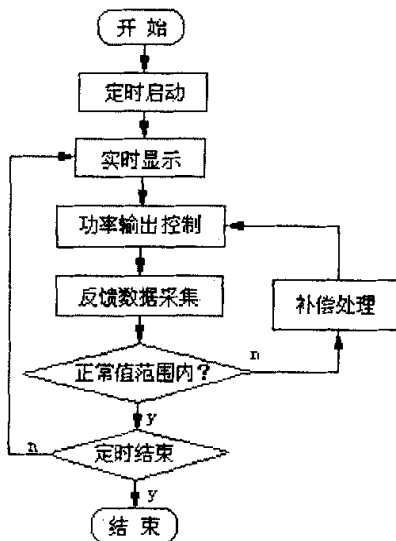


图 12 功率控制子程序流程图

单片机通过控制 X9C103 输出控制激光器输出功率，同时监控激光二极管反馈信号，实时调节输出功率，保证输出功率精确稳定。X9C103 为 100 抽头数字电位器，理论上每个抽头的移动可以控制 0.5mW 功率的输出。但实测数据有一定的非线性（如图 10a 所示），因此在软件中增加补偿处理，即对所采集的反馈信号和预设功率进行比对、计算，根据结果调整输出控制，消除输出功率与预设值之间存在的误差，提高输出精确度。

补偿处理方法是：利用功率计和万用表精确测试 1-50mW 每一个输出功率点的反馈信号并进行记录；分析数据，确定功率控制所需标准反馈信号数值；在程序中所采集的反馈信号进行对比计算，调整相应输出功率控制。图 13b 所示为经过补偿处理后输入预设功率与实际输出功率关系图。

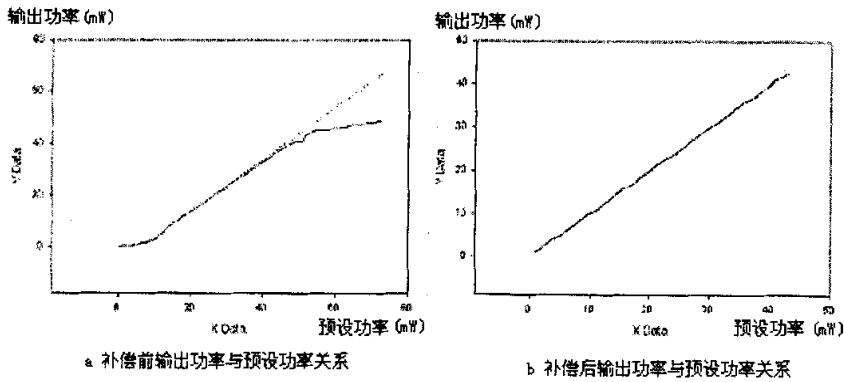


图 13 输出功率与预设功率关系图

1.4 系统测试

本课题所研制半导体激光治疗仪的输出功率连续可调，利用北京光电研究所研制的 M-93 功率计对系统输出功率进行精度测试，测量 5~50mW（步长 1mW）间每个功率点的输出随时间变化的数据。测试时间：每个功率点 60min，每 30s 记录一次数据，即每个功率点纪录 120 个数据。图 14 所示为三个典型功率时间关系图。

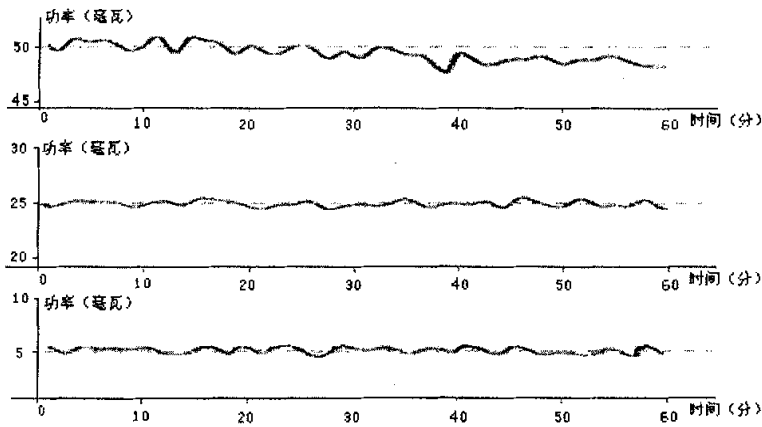


图 14 输出功率与时间关系图

由图 14 可见,系统工作在 5mW 与 25mW 时比较稳定,输出功率随时间的增加变化很小,误差小于 0.3mW。工作在 50mW 时,初期工作稳定,30 分钟后输出功率明显下降,原因是由于随着工作时间的增加,温度升高对输出影响作用明显增强。而 50mW 已接近该激光二极管的最大输出,反馈控制调节受激光二极管驱动电路的限流功能限制,作用不明显,故而随着工作时间的加长,功率输出便因温度影响而下降。

系统测试证明,本仪器可精确输出 1-47mW 激光,在最大输出 50mW 时,可以稳定工作 30 分钟。

1.5 仪器及附件

仪器照片如图 15 所示。



图 15 半导体激光治疗仪

1) 该仪器在医院耳鼻喉科的使用中,可作为专用于中耳炎治疗的医用器械,配置耳机式塑料框架支持激光头,激光头位置和角度均可任意调节,从而方便对不同病人耳内的精确照射治疗。

2) 设计支架可以对鼻、喉等不同部位进行固定照射;还可利用气盘固定激光头,吸附在所选穴位上,进行穴位照射理疗。这

样，患者可以不受体位限制，使用时舒适轻松，家庭保健理疗非常方便。

3) 根据临床报道，半导体激光对疼痛的缓解效果非常明显。故可根据具体科室情况，针对常用部位制作固定架，直接照射患者疼痛部位。

4) 在仪器的调试测量中考虑到，功率的标定应该在每次仪器使用前进行一次，以保证输出功率的精准。因此，我们准备在后期仪器产品化中将设计一个小型专用激光功率计安装在仪器上。

2 半导体激光生物效应研究

激光对生物组织有刺激作用,其作用机制可能是多种的。“刺激”是生物体机能学上的一个概念。根据生物体机能学、植物神经反射学、分子生物学和巴浦洛夫学说的原理,可以认为,弱激光与生物机体相互作用时,激光是一种刺激源,而生物体内有专门感受各种刺激的感受器。在生物体内外感受器接受刺激后,引起冲动,传入末梢神经,到达反应器发生反应。应答性反应是兴奋或抑制,取决于施用激光的相对剂量。适当剂量的激光能量作用于生物体一定的部位以后,作为对这种适当刺激量的回答性反应,在分子水平上是调整蛋白质和核酸的合成,影响 DNA 的复制,调节酶的功能,在细胞水平上是动员代偿、营养、修复、免疫和其它防御机制来消除病理过程。激光生物刺激作用的上述机理只是一个推理性假设。在国外,有关弱激光生物刺激作用机理学说很不一致。有生物电场假设、光调节系统假设、细胞膜受体假设和偏振刺激假设等四种很不一致的假设。表明这一理论尚不成熟,有待于进一步探讨。

激光与生物的相互作用是一个由多种因素决定的复杂过程。激光的参数如波长、功率、能量、相干、偏振方式、激光模式等对生物组织都有不同的影响。而生物组织的性质如密度、弹性、热导率、比热、热扩散率、反射率、吸收率、色素、含水量、不均匀性和层次结构等,也会对激光作出不同的反射。近年来对激光与生物相互作用的研究逐步深入,主要是从理论上和实验中探讨各种组织对激光的吸收和散射(含内反射),确定激光能量在组织内的分布和组织内的温度分布。从宏观上来讲,即研究人体光学和激光剂量学。其目的是达到精确控制和量化激光医疗技术,进一步巩固和提高临床效果。

本课题利用研制的半导体激光治疗仪进行了相关实验,希望为低强度半导体激光治疗疾病的机理研究提供一些实验数据。

2.1 半导体激光照射对大肠杆菌生长规律的影响实验

该实验主要目的为探寻半导体激光照射大肠杆菌后,大肠杆

菌的生长是否受到影响。我们通过对实验结果进行分析，建立起经过半导体激光照射后，大肠杆菌生长的曲线图。

2.1.1 材料和方法

2.1.1.1 实验仪器

(1) 第四军医大学物理教研室研制的 DL-Y 型半导体激光治疗仪，输出功率范围 1~50mW，输出光斑直径 2~6mm，激光连续输出最大时间 1 小时。

(2) 北京光电研究所研制的 M-93 功率计。

(3) OD 值测试仪。台式恒温摇床，分光光度计，麦氏比浊器、恒温培养箱、超净工作台

利用 M-93 功率计对自行研制的 DL-Y 型半导体激光治疗仪输出激光功率进行精度测试与调节，使 DL-Y 型半导体激光治疗仪在本实验中的输出精度误差 $<0.3\text{mW}$ 。

2.1.1.2 实验材料

菌株：由第四军医大学基础部微生物教研室提供的大肠杆菌 JM109。

LB 液体培养基 (Luria-Bertani)：取胰化蛋白胨 1g、酵母提取物 0.5g、NaCl 1g、蒸馏水 100ml；将胰化蛋白胨、酵母提取物和 NaCl 置于烧杯中，加入所需水量 2/3 的蒸馏水于烧杯中，用玻棒搅拌，使药品全部溶化。用 1mol/L NaOH 溶液调 pH 至 7.0。将溶液倒入量筒中，加水至所需体积。加入所需量琼脂，加热融化，补足失水。分装、加塞、包扎后高压蒸汽灭菌 100Pa 灭菌 20min。

2.1.1.3 实验方法

用接种环刮取少量大肠杆菌，溶于 1mL 生理盐水中，震荡均匀后，吸取 0.5mL 加入 15mL LB 液体培养基中，在 37℃、180r/min 摇床振荡培养 1 小时后，取出进行实验。

将菌液分为五组，每组 3ml，分别为对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组、实验 4 组。半导体激光对实验组细菌进行照

射，实验 1 组 10mW 照射 30min、实验 2 组 20mW 照射 30min、实验 3 组 30mW 照射 30min、实验 4 组 40mW 照射 30min，对照组细菌不进行照射，其他条件与实验组保持一致。实验组细菌经半导体激光照射结束后，与对照组细菌一起放进 37℃ 台式恒温摇床培养，并测量各组细菌分别经过 2 小时、4 小时、6 小时、8 小时的培养后的 OD 值。测量 OD 值时，由于细菌浓度较高，可以按照 1：10 的比例对菌液进行稀释后再开始测量。

2.1.2 结果

实验重复进行 7 次，剔除 2 次由于其它原因所致的明显错误的的数据，对 5 次实验数据求平均值，结果如表 1。

表 1 各实验组与对照组光密度值（OD 值）

组别	实验 1 组	实验 2 组	实验 3 组	实验 4 组	对照组
测量时间	10mW	20mW	30mW	40mW	
2 小时后	0.199±0.031	0.166±0.086	0.165±0.037	0.116±0.013	0.160±0.035
4 小时后	0.264±0.081	0.252±0.076	0.254±0.077	0.232±0.0794	0.254±0.081
6 小时后	0.344±0.013	0.346±0.004	0.345±0.009	0.337±0.025	0.339±0.016
8 小时后	0.342±0.006	0.347±0.013	0.360±0.004	0.356±0.007	0.355±0.013

根据表中数据制作条形图表如图 16：

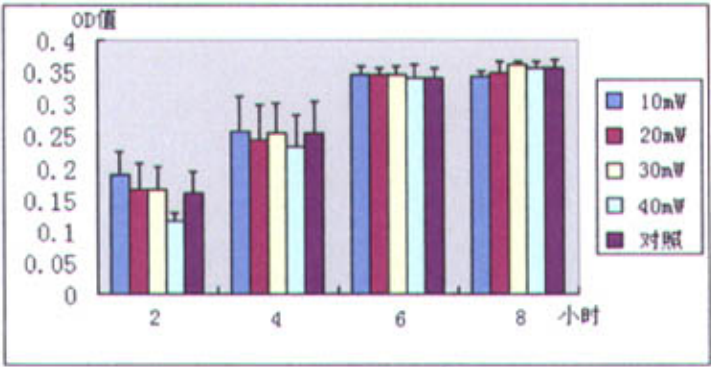


图 16 实验组与对照组大肠杆菌菌液光密度值

由实验结果可以看出，在培养 2 小时后，实验 1 组的大肠杆

菌生长情况相对于对照组与其他实验组表现出明显的刺激作用；实验 2、3 组相对于对照组基本没有差别；实验 4 组的相对于对照组则表现出明显的抑制作用。对培养 2 小时的各组大肠杆菌的 OD 值进行统计处理，得到结果为：10mW 实验组与对照组间 $t=1.4346$ ， $v=8$ ， $0.05 < P < 0.10$ 。10mW 实验组与 20、30mW 实验组差别无统计学意义，与 40mW 实验组间 $P < 0.05$ ，差别有统计学意义。20、30mW 实验组与其他组无差别。40mW 实验组与对照组间 $t=2.04$ ， $v=8$ ， $0.02 < P < 0.05$ ，有明显差异。

在培养 4 小时后，条框图中上述现象仍存在，但各组的 OD 值差别已明显减小，且各组间差别均无统计学意义。培养 6 小时后，各实验组和对照组的 OD 值已基本没有差别。培养 8 小时后实验 1 组、2 组相对于对照组的 OD 值有稍许减小；实验 3 组则有稍许升高；实验 4 组相对于对照组的 OD 值持平，各组间差别均无统计学意义。

2.1.3 分析讨论

细菌在适宜的人工培养条件下，其分裂繁殖速度与菌种有关。多数细菌每 15~20 分钟分裂一次，为之一代。事实上由于营养物质的消耗和毒性代谢产物的蓄积等原因，细菌不可能始终保持上述的繁殖速度。当培养至一定时间，细菌的分裂即减慢速度最后完全终止。

如将细菌接种在液体培养基内，在一定条件下培养，可观察到细菌的生长繁殖有一定的规律性。如以细菌增长数的对数做纵坐标，以培养时间做横坐标，可绘成一条曲线，成为生长曲线。生长曲线可表示细菌从开始生长到死亡的全过程动态。

细菌的生长曲线可划分为四个期^[48]。

1) 迟缓期：当细菌被转种到新的培养液内，一般并不立即繁殖，它需要一段时间适应新的环境。因而最初活菌数并不增多，但此时细菌的代谢却很活跃。在接种初期的 2~3 小时内，菌体常

增大 2~3 倍，贮藏的物质逐渐被消耗，细胞质更均匀。这一时期的细菌对环境中的理化因素的影响很敏感。迟缓期的长短不一，通常由数小时到数天不等。

2) 对数期：在对数期细菌繁殖迅速，细菌的增代时间极短，大肠杆菌为 17 分钟，普通变形菌为 21 分钟，结核杆菌为 15~18 小时。总数和活菌数均呈几何级数地增加。此阶段细菌死亡很少。

此阶段细菌的形态、染色性、生理活性等都比较典型，对外界环境因素的作用较为敏感。

3) 稳定期：对数期以后，由于培养基中营养物质消耗，毒性产物（有机酸、 H_2O_2 等）积集的影响，使细菌的繁殖速度渐趋下降，死亡数逐步上升，新增数与死亡数几乎相等，活菌数不增不减，保持稳定。此期，细菌可出现多种形态与生理的变异；在细胞质内开始积累贮存，如糖原颗粒、异染颗粒等物质；革兰氏阳性菌的染色性可变为革兰氏阴性；芽孢亦多在此期形成；细菌的一些代谢产物如外毒素、抗生素等也多在此期内产生。

4) 衰退期：稳定期继续发展，细菌繁殖越来越慢，死亡越来越多，死菌数超过活菌数，一般总菌数（包括活菌与死菌）并不减少，有些细菌死后自溶，总菌数也可下降。

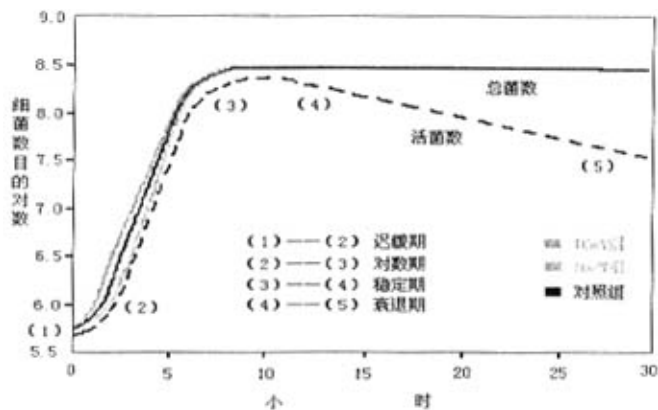


图 17 细菌生长曲线

本实验中, 细菌培养两小时后, 处于生长迟缓期末, 由结果可以看出, 半导体激光照射强度最小的实验组细菌生长的刺激效应最为明显, 而强度最大的实验组细菌生长则呈现明显的抑制作用 (如图 17)。这说明半导体激光照射对细菌的生长有明显的作用, 且因照射强度的不同而表现出刺激和抑制两种情况。细菌培养 4 小时后出于对数生长期, 上述作用仍然存在, 但已不明显。此阶段细菌繁殖迅速, 增代时间短, 半导体激光的照射作用也已经传过几代, 因此其产生的影响逐渐消退。在细菌培养 6 小时和 8 小时后, 各实验组与对照组间已无差别。由此可见, 低强度半导体激光照射对大肠杆菌的生长有一定影响, 但其影响对传代后的细菌则逐渐减弱。

2.2 半导体激光照射对耐药细菌耐药性的影响实验及分析

弱激光的刺激效应可以加强局部血液循环、提高免疫功能、调整机能、促进细胞生长、组织修复等作用达到治疗疾病的目的。但一直以来, 弱激光照射治疗疾病的机理尚未有明确的结论, 文献中, 也很少有弱激光对患部致病细菌作用的论述, 实验数据较少。而近年来, 由于抗生素的过多过滥使用, 临床耐药菌株逐年增多, 给疾病的治疗带来很大困难。较早有报道, He-Ne 激光照射可增大某些细菌的抑菌直径, 报道中所用激光功率较大, 而一些临床应用中激光使用功率较小。本文实验中使用的半导体激光功率为耳鼻喉科常用功率, 照射耐药菌株, 检测照射后抗生素对其最低抑菌浓度 (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) 的变化情况, 为进一步探讨弱激光对耐药细菌的作用机理和治疗疾病提供一些实验数据。

本实验的目的是研究弱激光照射耐抗生素药物的细菌后, 耐药菌耐药性是否发生了改变, 初步探讨弱激光体外照射治疗疾病的机理。实验中, 利用低强度半导体激光照射耐抗生素药物临床菌后, 检测多种抗生素对该菌 MIC 的变化。通过实验可以看到,

经半导体激光照射后, 抗生素对耐甲氧西林金黄色葡萄球的 MIC 有明显降低; 对耐药绿脓杆菌的 MIC 也发生了变化。因此, 我们得到初步结论, 低能量半导体激光照射可使耐药细菌耐药性下降; 但其耐药性可否降低至对药物敏感或中敏的程度尚需进一步实验设计与验证。

2.2.1 材料和方法

2.2.1.1 实验仪器

(1) 第四军医大学物理教研室研制的 DL-Y 型半导体激光治疗仪, 输出功率范围 1-50mW。

(2) 北京光电研究所研制的 M-93 功率计。

(3) 麦氏比浊器、恒温培养箱、超净工作台。

2.2.1.2 实验材料

菌株来源: a) 由第四军医大学西京医院检验科细菌室提供的临床标本分离株——耐甲氧西林金黄色葡萄球菌, 对青霉素、红霉素、头孢唑啉等耐药。

b) 由第四军医大学西京医院检验科细菌室提供的临床标本分离株——绿脓杆菌, 对青霉素、氨苄西林、头孢派酮、替卡西林等耐药。

药物选择: a) 青霉素: 批号 A04027914; 生产厂家: 哈药集团制药总厂。

b) 头孢唑啉 (先锋 5): 批号 021002-1; 生产厂家: 石家庄制药集团有限公司。

c) 头孢派酮: 头孢派酮钠舒巴坦钠, 生产厂家: 山西普德药业有限公司; 批号: H14021658。

d) 替卡西林: 替卡西林钠克拉维酸钾, 生产厂家: 江苏海宏制药有限公司; 批号: H20063257。

培养基配制: MH 肉汤, 去脂肪筋膜牛肉 300g 绞碎, 加蒸馏水 1000ml, 制成肉浸液。将可溶性淀粉 1.5g、水解酪蛋白 17.5g

加入肉浸液内，加热熔化后调 pH 值至 7.4，用 1.05 kg 高压灭菌 15-20 分钟。

2.2.1.3 实验方法

功率计检测并调整半导体激光治疗仪输出精度。

用麦氏比浊器配制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌液、耐药绿脓杆菌液各 1.0 个麦氏单位，并用灭菌生理盐水稀释成 1×10^8 CFU/ml。两种细菌菌液都分成 1 个对照组与 4 个实验组，每组 1ml 菌液。对照组不照射，实验组以光斑 $\Phi 5\text{mm}$ 、距离 6cm 半导体激光由试管口垂直照射菌液。4 个实验组分别为实验 1 组（20mW 照射 30 分钟）、实验 2 组（20mW 照射 60 分钟）、实验 3 组（40mW 照射 30 分钟）、实验 4 组（40mW 照射 60 分钟）。实验组菌液每天照射一次，连续照射 4 天。照射间隙对照组与实验组菌液放置 4℃ 冰箱内，保持对照组与实验组环境一致。

采用倍比稀释法检测各实验组与对照组细菌的最低抑菌浓度（MIC）^[49]。用灭菌生理盐水将各组菌液稀释为浓度 1×10^6 CFU/ml；取所测药品 256mg 加入 10ml 灭菌蒸馏水中预溶，混合均匀后吸取 1ml 加入到 9ml 灭菌蒸馏水中稀释，再取稀释后的药液 1ml 加入到 9ml 肉汤中，即稀释成浓度为 256 $\mu\text{g/ml}$ 的药液。将配置好的肉汤、药液和菌液按照表 2 所示方法分别加入到 12 支试管内。具体方法：1）取灭菌的小试管 12 支置于试管架上，再以无菌操作每管加 MH 液体培养基 1.0ml，但第 1 管不加培养基。2）无菌操作吸取配置好的抗菌药物稀释液 2.0ml 加入第 1 管中，再从第 1 管内吸取 1.0ml 放入第 2 管内，混匀后吸取 1ml 放入第 3 管内，如此做逐管倍量稀释到第 10 管，混匀后吸取 1.0ml 弃去。第 11、12 管做为阴性对照和阳性对照不加药液。3）每管加被检细菌菌液稀释物各 0.1ml。第 11 管为阴性对照管不加菌液。第 12 管为阳性对照，加入 0.1ml 菌液。4）35℃ 培养 18h，观察结果（试管内细菌生长情况）。

表 2 倍比稀释法

试管编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	-	+
肉汤 (ml)	0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
药液 (ml)	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	弃去	弃去
1×10^6 菌液 (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	弃去	0.1
药液浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0	0

结果观察：肉眼观察，试管内含最小量尚呈明显不浑浊的试管所含抗菌药物的浓度为所检测 MIC。

2.2.2 结果

若照射所用激光的功率大小不相同，则对细菌的作用可能会截然不同。大功率激光照射对细菌有明显抑制作用，甚至可以直接杀死细菌，而小功率的激光照射对细菌的效果可能会有所不同。本实验所选用的激光功率在耳鼻喉科临床照射理疗常用的激光功率（一般在 40mW 以下）。实验所测两大组数据：第一组为半导体激光第 1 次照射实验组细菌完成后立即进行的各组 MIC 值测量得到的数据；第二组是半导体激光对实验组细菌的 4 次照射全部完成后检测各组得到的 MIC 值。

2.2.2.1 青霉素、头孢唑啉对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度

对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药检测选用的药物为青霉素和头孢唑啉（先锋 5），实验数据如表 3 所示。

表 3 青霉素、头孢唑啉对金黄色葡萄球菌的 MIC 值 (mg/L)

照射功率 (power)	20mW		40mW		对照
	30min	60min	30min	60min	
青霉素 照射 1 次	256	256	256	256	256
头孢唑啉 照射 1 次	32	16	32	32	128
青霉素 照射 4 次	64	64	64	32	256
头孢唑啉 照射 4 次	16	32	32	64	256

表 3 所示数据为青霉素、头孢唑啉对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的 MIC，数据单位是 mg/L。由于采用的是倍比稀释法测量 MIC，实验所得数据呈倍数关系，故对所得实验数据以 2 为底取对数后做统计处理。按照照射次数分别对比照射 1 次和照射 4 次后青霉素、头孢唑啉对金黄色葡萄球菌的 MIC 做图表，图表如图 17、18。从这两个条形图可以比较明显的看出个实验组与对照组 MIC 值的差别。

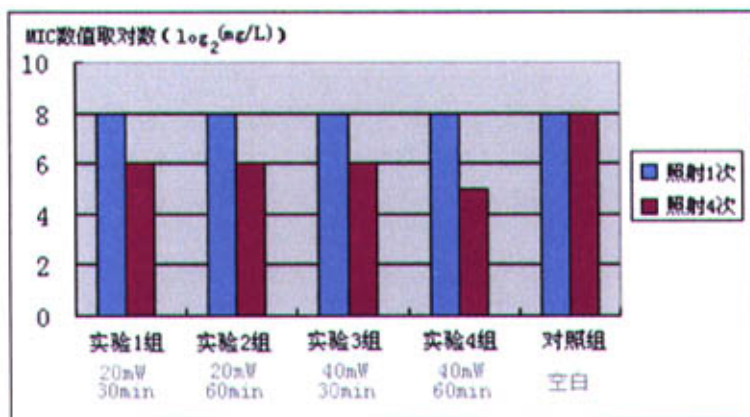


图 17 青霉素对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度

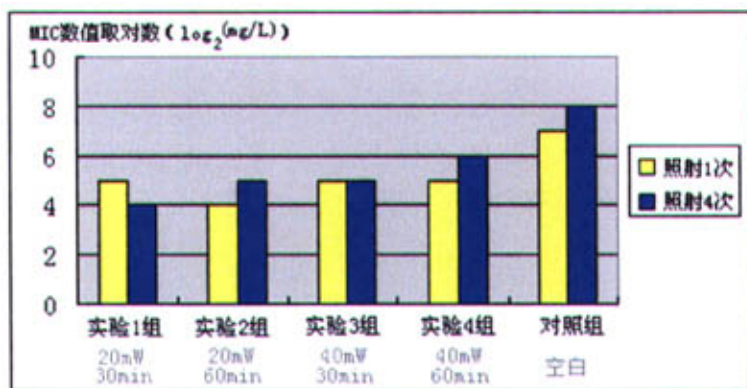


图 18 头孢唑啉对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度

由图 17 可以看出：青霉素对经半导体激光 1 次照射后（雪

青色条框)的实验组金黄色葡萄球菌的 MIC 值没有改变,与对照组没有任何差异;但经过 4 次照射后(枣红色条框),实验组金黄色葡萄球菌对青霉素的 MIC 有明显降低,其中照射功率 40mW、时间 60min 的实验 4 组变化最为明显, MIC 值降低了 3 个梯度。

观察头孢唑啉对金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度(图 18),可以看出,所有功率时间不同的实验组菌液经过半导体激光照射 1 次后(黄色条框), MIC 值均有明显降低,其中 20mW60min 组最为显著,降低 3 个梯度;而在经过半导体激光 4 次照射后(蓝色条框), 20mW30min 实验组的 MIC 值变化最为明显,降低 4 个梯度。从图中看,照射 1 次和照射 4 次差异不显著。

2.2.2.2 头孢派酮、替卡西林对绿脓杆菌的最低抑菌浓度

对耐药绿脓杆菌的耐药性检测选用的药物为头孢派酮和替卡西林,实验数据如表所示。

表 4 头孢派酮、替卡西林对绿脓杆菌的 MIC 值 (mg/L)

照射功率 (power)	20mW		40mW		对照
	30min	60min	30min	60min	
照射时间 (time)					
头孢派酮 照射 1 次	2	2	4	4	16
替卡西林 照射 1 次	2	4	4	8	32
头孢派酮 照射 4 次	4	4	8	8	8
替卡西林 照射 4 次	4	8	8	16	16

表 4 数据是头孢派酮、替卡西林对耐药绿脓杆菌的 MIC 值,数据单位是 mg/L,对实验数据以 2 为底取对数做统计处理,分别对比照射 1 次和照射 4 次后头孢派酮、替卡西林对绿脓杆菌的 MIC。图 19、图 20 两个条形图为绿脓杆菌实验组与对照组 MIC 值的差别。

从图 19 中可以看出绿脓杆菌经半导体激光 1 次照射后(雪青色条框),头孢派酮对它的 MIC 有明显改变,各实验组均比对照组的 MIC 值降低,其中实验 1 组和实验 2 组,即两个 20mW 的照射组, MIC 值降低最为明显,均降低了 3 个梯度;经过 4 次照射

后（枣红色条框），实验组耐药绿脓杆菌对头孢派酮的 MIC 相比对照组稍低，其中照射功率 20mW、时间 30min 的实验 1 组 MIC 值最低，比对照组低 2 个梯度。相对于 1 次照射后的实验组，经 4 次照射后的所有实验组的 MIC 则有所升高。

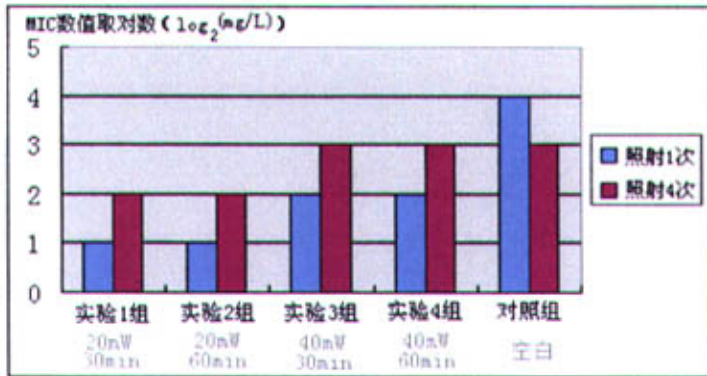


图 19 头孢派酮对耐药绿脓杆菌的最低抑菌浓度

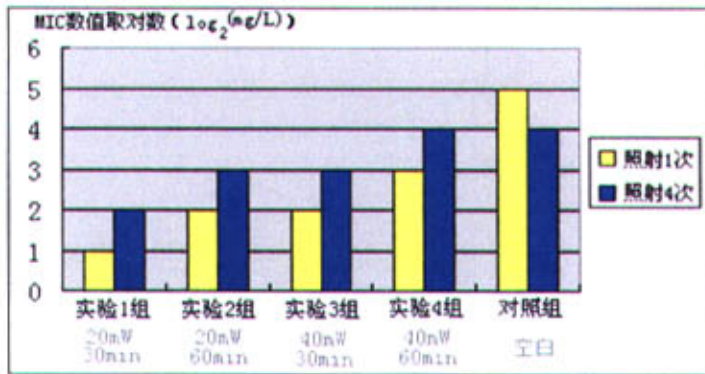


图 20 替卡西林对耐药绿脓杆菌的最低抑菌浓度

由图 20 观察替卡西林对耐药绿脓杆菌的 MIC，可以看出，所有功率时间不同的实验组菌液经过半导体激光照射 1 次后（黄色条框），MIC 值均有明显降低，其中实验 1 组，即 20mW30min 组最为显著，降低 4 个梯度；经过半导体激光 4 次照射后（蓝色条框），所有实验组的 MIC 均比 1 次照射后的 MIC 有所上升，其

中仍然是实验 1 组 (20mW30min) 的 MIC 值最低, 比对照组低 2 个梯度。

2.2.3 讨论

细菌是微生物中的一大类, 同大生物一样, 具有遗传变异的生命特征, 细菌耐药性变异就是常见的一种细菌变异现象。原来对某种抗生素敏感的细菌发生变异后, 成为对该种药物具有耐药性的耐药菌株。细菌的耐药性可分为: 1) 固有耐药 (intrinsic drug resistance), 即代代相传的耐药性; 2) 获得性耐药 (acquired drug resistance): 病原菌因各种原因对抗菌药物产生了抵抗力, 即由原来敏感变为不敏感, 致使疗效降低或治疗失败。细菌的多重耐药性 (multiple-drug resistance, MDR) 则是指细菌同时对多种作用机制不同 (或结构完全各异) 的抗菌药物具有耐性。

2.2.3.1 抗菌药物杀菌机制

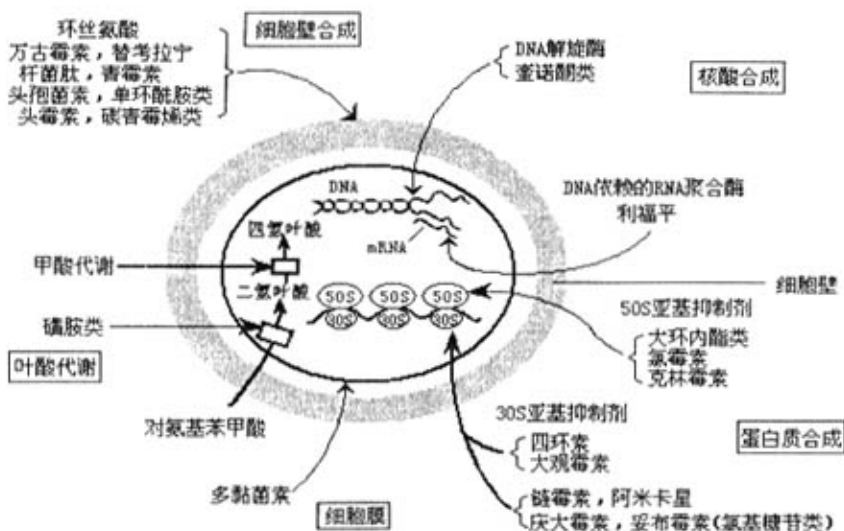


图 21 抗菌药物的杀菌机制

临床应用的抗菌药物包括抗生素 (antibiotic) 和化学合成抗菌药。抗生素是某些微生物在代谢过程中产生的一类抗菌物质,

大多有放线菌和丝状真菌产生。在抗生素母核中加入不同侧链或通过母核结构改造而获得的为半合成抗生素，完全化学合成的为合成抗菌药物。抗菌药物杀菌机制（图 21）主要包括：

1) 阻碍细胞壁的形成

肽聚糖（peptidoglycan）是细菌细胞壁的主要组分。许多抗菌药物能干扰肽聚糖的合成，使细菌不能合成完整的细胞壁，可导致细菌死亡。其中，糖肽类抗生素（如万古霉素和替考拉宁）可与 UDP-胞壁酰五肽末端的 D-Ala-D-Ala 结合，形成复合物，可能抑制肽聚糖链延伸或肽链交联； β 内酰胺类抗生素能与细菌竞争性抑制参与肽聚糖合成所需的转肽酶、羧肽酶或二肽酶，有的还间接抑制转糖基酶，从而抑制四肽侧链上的 D-Ala 与五肽交联桥之间的联结或侧链直接相连。被 β 内酰胺类抑制的酶具有与青霉素结合的能力，故称为青霉素结合蛋白（penicillin binding protein, PBP）。 β 内酰胺类抗生素含有一个内酰胺环，主要种类有：①青霉素类，如青霉素 G、甲氧西林、阿莫西林等；②头孢菌素类，包括第一代（如头孢拉定）、第二代（如头孢克洛）、第三代（如头孢他啶）和第四代头孢菌素（如头孢吡肟）；③头霉素，如头孢西丁；④碳青霉烯类，如亚胺培南；⑤单环 β 内酰胺类，如氨曲南。

2) 抑制蛋白质的合成

细菌核糖体有 50S 和 30S 亚基组成，许多抗菌药物能干扰细菌核糖体的功能，抑制蛋白质合成，使细菌丧失生长繁殖的物质基础，导致细菌死亡。主要种类有：①氨基糖苷类，包括链霉素、庆大霉素等，其杀菌机制主要是与核糖体 30S 亚基不可逆地结合，将已接上的甲酰蛋氨酰-tRNA 解离，抑制蛋白质合成起始过程；亦可阻止核糖体与释放因子结合，阻断已合成蛋白质的释放。②四环素类，主要有四环素、甘氨环素、多西环素，可特异性的与核糖体 30S 亚基 A 结合，影响蛋白质合成初始阶段和释放。③大

环内酯类，主要包括红霉素、螺旋霉素、克拉霉素，可与核糖体 50S 亚基结合，阻断转肽作用和 mRNA 位移，故而抑制蛋白质合成。④林可霉素和克林霉素，抗菌机制与大环内酯类相似。⑤氯霉素，可与核糖体 50S 亚基结合，使肽链延伸受阻。

3) 抑制核酸的合成

主要药物有：①喹诺酮类，DNA 复制时，DNA 解旋酶（拓扑异构酶 II）和拓扑异构酶 IV 将 DNA 双螺旋的两条链切开，让另外一个双螺旋从该切口通过，然后将切开的双链重新连接上，从而消除或引入负超螺旋。喹诺酮类（如环丙沙星、氧氟沙星、诺氟沙星等）通过与 DNA 解旋酶-DNA 复合体相结合，抑制 DNA 的断裂-重接循环，干扰 DNA 双螺旋形成，阻碍遗传信息的复制，发挥杀菌作用。②利福平，与细菌的 DNA 依赖的 RNA 聚合酶 β 亚单位结合，抑制 mRNA 的合成。

4) 影响细胞膜的功能

细菌细胞膜具有选择性屏障作用，并具有多种酶系统，参与生化代谢过程。多黏菌素作用于革兰阴性杆菌的磷脂，是细胞膜受损，胞质内容物漏出，引起细菌死亡。

2.2.3.2 金黄色葡萄球菌耐药性分析

临床上容易产生耐药性的病原菌可分为医院获得的耐药菌和社区获得的耐药菌。金黄色葡萄球菌属于医院获得的耐药菌。

随着青霉素和头孢菌素的广泛应用，60 年代出现耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA）。它除了具有金黄色葡萄球菌毒性强、对人危害大、感染广泛、多重耐药的特点外，还对几乎所有 β -内酰胺类抗生素耐药。目前对 MRSA 有效的治疗药只有万古霉素。值得注意的是，现在已经发现对万古霉素不敏感的金黄色葡萄球菌。MRSA 的另一个特点是易于在医院这种年老体弱人群聚集的场所造成感染传播，这种可能致命的病毒是通过患者与没有彻底将手洗干净的医院工

作人员之间的接触来传播的，可在短时间内削弱人的免疫系统，最终致人死亡。因此，MRSA 被列为世界三大最难解决的感染性疾患的首位（其次为乙肝和获得性免疫缺陷综合征）。

至今已发现细菌可通过五种方式抵抗药物作用：产生酶（具有催化能力的蛋白质），使药物结构发生改变或失去活性；改变与药物结合的部分，使之不与药物结合；改变细菌细胞壁的通透性，使药物不能进入细菌；把药物排出细菌；形成一层特殊的膜把细菌包围、保护起来。甲氧西林之所以能够杀死病菌，是由于它能够和细菌中的青霉素结合蛋白 PBP 结合，使其失去活性，从而使细菌无法形成细胞壁死亡。但是 MRSA 可产生一种特殊的 PBP 变体，它不容易与甲氧西林结合，在细菌中的其他 PBPs 都因为与甲氧西林结合而失活后，这种蛋白变体可替代它们完成细胞壁合成的功能，从而产生抗药性。万古霉素一种糖肽类抗菌药物，它和细菌中的另一种分子（细胞壁肽聚糖前体五肽）结合而抑制细菌细胞壁蛋白合成，因此使用万古霉素仍然可以杀死 MRSA。但是滥用万古霉素则必然会产生抗药病菌。

青霉素、头孢唑啉属 β -内酰胺类抗生素，其抗菌作用机制主要是通过抑制细胞壁粘肽合成酶，即 PBPs 来完成的。 β -内酰胺类抗生素通过与细菌主要 PBPs 结合，使细菌胞壁合成过程中的交叉连接不能形成，由此影响粘肽的合成，致使细菌不能合成细胞壁而溶菌死亡。MRSA 产生灭活酶 β -内酰胺酶（BLA），可以改变抗生素的结构使其灭活，从而使抗生素不能与靶蛋白结合；同时细胞内膜的靶位蛋白也会改变，失去与抗生素的亲合力，使细菌对该抗生素不再敏感。MRSA 产生的青霉素酶可使青霉素水解失活，但头孢唑啉对 β -内酰胺酶非常稳定，因此金黄色葡萄球菌耐头孢唑啉主要是由于其细胞内膜的靶位蛋白—青霉素结合蛋白的改变失去与头孢唑啉的亲合力，从而实现耐药效果。

本实验显示，头孢唑啉对经一次照射后的金葡菌的 MIC 变化

明显,这可能提示,MRSA 的青霉素结合蛋白(PBPs)对半导体激光照射比较敏感,照射后青霉素结合蛋白(PBPs)对头孢唑啉分子的亲和力明显提高;另一方面,从青霉素只对经过 4 次照射后的 MRSA 的最低抑菌浓度有所降低可以推断,这可能是由于 MRSA 产生的青霉素酶对半导体激光敏感度较低,一次照射对其没有影响不大,而经过长时间多次照射后,青霉素酶活性降低,因而水解青霉素的能力下降。我们推断,临床应用弱激光照射理疗结合药物治疗疾病(如耳鼻喉科脓性炎症)时,激光照射在提高局部机体组织免疫功能的同时,可能也使患部致病菌的耐药性降低,从而使药物的疗效更加显著。

2.2.3.3 绿脓杆菌耐药性分析

绿脓杆菌也属于医院获得的耐药菌。绿脓杆菌是铜绿假单胞菌的通称,除在自然界广泛存在外,也存在于正常人肠道、呼吸道及皮肤,是一种常见的条件致病菌。能产生蓝绿色的绿脓素和绿色带荧光的荧光素,且均为水溶性色素,因而使培养基呈现带荧光的兰绿色。绿脓杆菌有内毒素、荚膜和菌毛之外,还能产生多种致病因子,如外毒素 A、蛋白水解酶、磷脂酶 C、杀白细胞素等,参与致病作用。绿脓杆菌是人体正常菌群之一,在下列情况下易发生感染:(1)老年、幼龄、体质衰弱。(2)机体有免疫缺陷、肿瘤、烧伤等。(3)长期使用抗生素等^{[50][51]}。

作为医院感染的主要病原菌之一,近年来绿脓杆菌的耐药性日益严重,对大多数抗菌药物均产生耐药,尤其是对头孢菌素的耐药率呈上升趋势^[52]。资料显示,绿脓杆菌对头孢唑啉,头孢曲松、头孢噻吩等药物耐药率达 84.71%~100%,且有逐年升高趋势^[53](刘长庭等报道),这也可能与广泛应用头孢菌素后,铜绿假单胞菌产生超广谱 β -内酰胺酶有关^{[54][55]}。头孢曲松与头孢噻肟耐药率高达 84.71%和 88.45%^{[56][57]},这与广泛使用头孢菌素,从而产生头孢菌素酶,诱导超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)有关。

广州地区也报道 PA 对头孢菌素（含头孢他定）的耐药率均超过 90%，其研究显示 ESBLs 的产生率为 26%^[58]。

铜绿假单胞菌为多重耐药菌（MDR）。耐药机制极为复杂，主要耐药机制有①产生抗生素灭活酶或修饰酶；②通过改变抗菌药物作用的靶位，以逃避抗菌药物的抗菌作用；③膜屏障与主动外排作用，限制药物到达其作用靶位；④形成生物膜，使抗菌药物不能有效地到达作用部位^[59]。通常是几种耐药机制共同作用，造成对许多抗生素耐药。替卡西林与头孢派酮对绿脓杆菌的作用主要是，阻碍细胞壁的合成，而绿脓杆菌杆菌对其的耐药性首先表现在产生超广谱 β -内酰胺酶。已经知道，某些耐药绿脓杆菌可以产生几乎所有类型的 β 内酰胺酶。其次，改变细菌胞浆膜通透性。细菌可通过各种途径使抗菌药物不易进入菌体，绿脓杆菌和其他革兰阴性杆菌细胞壁水孔或外膜非特异性通道功能改变引起细菌对一些广谱青霉素类、头孢菌素类包括某些第三代头孢菌素的耐药。本实验绿脓杆菌经过不同功率的半导体激光照射后，药物对其 MIC 均有所降低。其中，经半导体激光照射 1 次后的 MIC 降低比较明显，且又以实验 1 组（20mW30min）的 MIC 降低幅度最大。照射 4 次后，各实验组相对于对照组的 MIC 降低幅度较小，实验 4 组与对照组持平。这说明耐药绿脓杆菌对半导体激光照射较为敏感，经过一次照射，其耐药质粒活性可能明显降低、浆膜通透性增大等，从而使其耐药性降低。但经过连续 4 次照射后，绿脓杆菌耐药性又有升高，这可能是由于绿脓杆菌对半导体激光照射产生适应性所导致的。

3 小结

本课题所研制仪器在软件硬件上按照设计方案完成了全部功能，克服常用激光器的各种不足，并具有功率调整智能化、体积小、价格低廉、操作简单以及安全可靠的优点，达到了预想的效果。仪器制作完成后对其进行系统功能和精度测试，效果良

好。研制出的半导体激光治疗仪操作简单，使用安全。使用人员根据面板按键标称即可进行操作，功率连续可调，适用于多种不同要求的照射治疗；仪器具有输出监控功能，精度较高；仪器实现多路输出，可根据需要同时输出若干路半导体激光同时工作。

利用所研制仪器进行的半导体激光对细菌作用实验提示，低强度半导体激光照射细菌可影响其生长规律，且因照射强度的不同而呈现刺激和抑制两种情况；低强度半导体激光照射治疗炎症等疾病可以使患部血液循环增强、免疫功能提高、调整机能、促进细胞生长、组织修复等之外，也可能使患部致病菌活性降低，对药物敏感性提高，从而使半导体激光照射结合药物治疗的方法得到更好的疗效。同时，照射治疗疾病应视病情不同确定治疗方法和疗程长短，否则可能得不到预期效果。

根据实验，我们推断，临床应用半导体激光治疗仪照射结合药物治疗疾病尤其是五官科各类炎症时，半导体激光治疗仪照射在提高局部机体组织免疫功能的同时，可能也使患部致病菌的耐药性降低，从而使药物的疗效更加显著。实验所选用菌株为高耐药菌株，半导体激光照射金葡菌后，其耐药梯度明显降低，但尚未达到敏感或中敏。照射后耐药梯度能否降至对临床有实际意义的敏感程度还有待更多实验研究。另一方面，半导体激光照射对其他耐药菌及其后代的影响以及对多种抗生素的 MIC 也需进一步实验研究。

参考文献

- [1] 李康英 呼唤:产业化、国产化、标准化 现代医学仪器与应用. 2006, 70:41-43
- [2] 李康英, 侯占英.低强度激光的生物效应对组织修复的影响.激光生物学报, 2005, 14 (4) : 283-286
- [3] 江剑平 半导体激光器[M]. 北京:电子工业出版社, 2000
- [4] 杨继庆, 文峻 医学物理学. 科学技术文献出版社. 2002 年 10 月第 1 版
- [5] 房启勇, 施浣芳, 高洪尧 半导体激光器光束质量改善新技术综述. 光学技术. 2003, 29 (1) :107~109
- [6] 孙渝生, 范丽娟 半导体激光器在检测技术中的应用. 传感世界 1999,7
- [7] 魏佩敏 半导体激光器的输出功率控制及输出光信号调制. 机床与液压. 2001, 5:61-62
- [8] 吴利民, 尤海航 自混合型半导体激光多普勒测速仪对血流量的测量. 红外与激光工程 1997, 26 (5) :59~61
- [9] 赵启韬, 苗俊英 激光共聚焦显微镜在生物医学研究中的应用. 北京生物医学工程 2003, 22 (1) :52~54
- [10] 周胜军, 刘凤军, 孙志辉 激光全息技术在生物医学工程中的应用. 医疗卫生装备 1998, 19 (4) :16~17
- [11] 王路威 半导体激光器的发展及其应用. 成都大学学报(自然科学版) 2003, 22 (3) :34-38
- [12] 韩晓俊, 李正佳, 朱长虹 半导体激光器在医学上的应用. 光学技术 1998, 2 期年 3 月:7~10
- [13] 龚富生 半导体激光治疗仪在口腔科的临床应用[J]. 山西医药杂志 1998, 27 (4) :293
- [14] 杨淑兰, 康梦奎, 胡晓英 半导体激光与 He-Ne 激光治疗五官科疾病
- [14] 杨淑兰, 康梦奎, 胡晓英 半导体激光与 He-Ne 激光治疗五官科疾病

- 显效率对比[J].中国激光医学杂志, 1999, 8 (3) :179
- [15] 张洁, 孙红英 半导体激光和 He-Ne 激光治疗颞颌关节紊乱综合征疗效比较[J]. 中国激光医学杂志, 2000, 9 (3) :171
- [16] 沈国荣, 金文潮, 富平半 半导体激光防龋的探讨[J]. 临床口腔医学杂志, 2002, 18 (4) :299
- [17] 杨中伟, 李明, 范宗宪 低强度半导体激光对耳鼻咽喉科疾病治疗的临床观察. 中国激光医学杂志, 2001, 10 (4) :260
- [18] 叶美云, 陈荣. 半导体激光照射治疗鼻炎 80 例[J]. 激光杂志, 2002, 23 (4) :57
- [19] Roma Kohli, Pradeep Kumar Gupta. Irradiance dependence of the He-Ne laser induced protection against UVC radiation in E. coli strains. Journal of photochemistry and photobiology march 2003, Volume 69, Issue 3, Pages:161-167
- [20] 曾真, 傅丽萍, 黄军骁等 半导体激光光针降血压及改善心血管功能的即刻疗效. 中国激光医学杂志 1997, 6 (2) :72~76
- [21] 赵东升, 王康孙, 石海云 半导体激光、氩激光、532 nm 激光经瞳孔光凝兔眼视网膜的组织学反应比较. 中国激光医学杂志 2000, 9 (1) :25~27
- [22] Scott A. Pastor, Kuldev Singh, David A. Lee, et al. Cyclophotocoagulation: A report by the american academy of ophthalmology[J]. Ophthalmology, 2001, 111 (2) :2130-2138
- [23] 司马晶, 周旌, 窦晓燕等. 二极管激光眼科临床应用初步报告[J]. 中国实用眼科杂志, 1998, 16 (11) :659-661
- [24] Edoardo Midena, Elisabetta Pilotto, Valentina de Belvis, et al. Choroidal vascular changes after transpupillary thermotherapy for choroidal melanoma[J]. Ophthalmology, 2003, 110 (11) :2216-2222
- [25] P. O. Byrne, P. R. Sisson, P. D. Oliver and H. R. Ingham. Carbon dioxide laser irradiation of bacterial targets in vitro. Journal of Hospital

Infection Volume 9, Issue 3, May 1987, Pages 265-273

- [26] 杨玉东, 李军, 刘菁华, 等. 低功率半导体激光血管外照射的临床应用研究[J]. 应用激光, 2002, 22 (1):60-64
- [27] 马瑞娟, 于建敏, 袁姣华等 He-Ne 激光治疗眶上神经痛 69 例. 中国激光医学杂志 2003, 8 月 12 卷 3 期:200
- [28] 于建敏, 马瑞娟, 王慧珍 半导体激光对机体痛阈的影响. 2006 年 2 月第 15 卷第 1 期:66
- [29] Eiichi Sakuraba, Akiko Sekine, Takashi Yanagisawa, et al. Pain relief effects of semiconductor laser irradiation[J]. International Congress Series, 2003, 1248 :459-463
- [30] Eiichi Sakuraba, Akiko Sekine, Takashi Yanagisawa, et al. Pain relief effects of semiconductor laser irradiation[J]. International Congress Series, 2003, 1248 :459-463
- [31] J. S. Kawalec, T. C. Pfennigwerth, V. J. Hetherington, et al. A review of lasers in healing diabetic ulcers. The Foot, 2004, 17(2):68-71
- [32] Cláudia Mello Radaelli, D. M. Zezell, etc. Effect of a high power diode laser irradiation in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis* [J]. International Congress Series, 2003, 1248: 273~276
- [33] Nussbaum E L; Lilge L; Mazzulli T. Effects of 810 nm laser irradiation on in vitro growth of bacteria: comparison of continuous wave and frequency modulated light [J]. Lasers Surg Med, 2002; 31 (5) : 343~351
- [34] 杨惠兰, 李军, 周克琴 半导体激光血管照射治疗荨麻疹等皮肤病 55 例疗效观察. 中国激光医学杂志 2002, 11 (4) :265
- [35] 深圳天基权科技 SLT 半导体激光治疗仪
- [36] 武汉海奥圣医疗科技有限公司 半导体激光口腔照射治疗仪
- [37] 中山日报 2003 年 10 月 22 日 第 3211 期 D1 版。
- [38] 赵箭光, 苏炽辉 He-Ne 激光照射后细菌生长规律的理论实验分析.

- 中国医学物理学杂志 1999, 16 (4) :222~224
- [39] T.I. Karu, O.A. Tiphlova, Yu. A. Matveyets, A. P. Yaratsev and V. S. Letokhov. Comparison of the effects of visible femtosecond laser pulses and continuous wave laser radiation of low average intensity on the clonogenicity of *Escherichia coli*. Journal of photochemistry and photobiology march 2003, Volume 10, Issue 4, Pages:339-344
- [40] 吴云华 He-Ne 激光对某些细菌的耐药性能的影响. 淮海工学院学报 1999, 8 (4) :53~55
- [41] 范建伟 MAX3867 激光二极管驱动电路及其应用. 国外电子元件 1999, 8:31~34
- [42] 朱茂华, 黄德康, 钟福艳 半导体激光器的电流调制特性研究. 大学物理实验 2003, 16 (4) :14~15
- [43] 王明生, 张娜, 单江东等 半导体激光器驱动与控制的分析与设计. 吉林大学学报 2002, 41 (4) :206-208
- [44] 黄岚, 方云婕, 丁海曙 等 近红外生物组织光谱特性测量仪器中半导体激光器驱动方案的研究. 激光生物学报 2002, 11 (3) :169-170
- [45] Eiichi Sakuraba, Akiko Sekine, Takashi Yanagisawa, et al. Pain relief effects of semiconductor laser irradiation[J]. International Congress Series, 2003, 1248 :459-463
- [46] 林卫星 激光电源的单片机控制软、硬件设计 工业控制计算机. 2001, 14 (8) :5657
- [47] 陆振雨, 高凯, 张尔扬 最小双模数字电位器 MAX5403 在 D/A 转换器中的应用. 国外电子元件 2003, 5:58~60
- [48] 戚中田 医学微生物学 科学出版社 2003 年 7 月第一版
- [49] 杨履渭 微生物学及检验技术
- [50] 徐修礼, 孙怡群, 樊新等 头孢吡肟、头孢哌酮 ! 舒巴坦、亚胺培南对铜绿假单胞菌体外抗菌活性. 中国抗生素杂志 2004, 29 (2) :111-113

- [51] 张慧芳, 李庆兴等 医院内感染绿脓杆菌对头孢菌素的耐药性分析
- [52] 马东梅, 董增义, 张少燕等 铜绿假单胞菌对 12 种抗生素最低抑菌浓度的检测. 齐鲁医学杂志 2005, 20 (2) :168
- [53] 刘长庭, 于德龙, 秦炎等 不同年代老年气管切开患者铜绿假单胞菌对抗生素耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12 (6) :339~341
- [54] 林道勇 100 株铜绿假单胞菌耐药性分析 [J]. 中国热带医学杂志, 2003, 3 (6) :774~775.
- [55] Live more MD.b-lactamases in laboratory and clinical resistance [J]. Clin Microbil Revi, 1995, 8 (4) :557.
- [56] 吴蓉, 府伟灵 重庆地区铜绿假单胞菌医院感染及耐药性分析 [J]. 中华医院感染杂志, 2004, 14 (1) :97~99.
- [57] 邵长周, 瞿介明, 何礼贤等 监护病房与普通病房下呼吸道铜绿假单胞菌感染的临床和耐药性对比研究 [J]. 中华内科杂志, 2002, 41 (12) :813~817.
- [58] 赖福才, 张豫明, 耿穗娜等 广州地区铜绿假单胞菌耐药监测结果分析 [J]. 中华医院感染学杂志 2004, 14 (8) :929~930.
- [59] 谢芬, 刘蓉, 周黎明等 铜绿假单胞菌对头孢菌素类抗生素耐药机制的初步研究. 四川生理科学杂志 2005, 27 (3) :105-107
- [60] Mercer CD, Minich FP, Pauli B. Sutureless bowel anastomosis using Nd:YA G Laser. Lasers Surg Med, 1987;7:503-506
- [61] Sauer JS, Rogers DW, Hinshaw JR. Bursting pressure of CO 2 laser weld edrabbit ileum. Lasers Surg Med, 1986;6:106-109
- [62] Farag A, Nasr SE, el Ashkar MF. Laser welding of everted enterotomies in rats. Eur J Surg, 1995; 161:735-739
- [63] 徐仁贵, 廖哲智 单片微型计算机应用技术 机械工业出版社 2001 年 2 月第 1 版

附 录

部分程序

```

        ORG      0000H
        AJMP     MAIN
        ORG      000BH ;          T0 input address
        AJMP     T0INT
TAB:    DB      3FH, 06H, 5BH, 4FH, 66H, 6DH, 7DH, 07H, 7FH, 6FH
        ; 共阴极字码段
TABP:   DB      0H, 16H, 18H, 1AH, 1CH, 1DH, 1FH, 21H, 23H, 25H,
        DB      27H, 28H, 2AH, 2CH, 2EH, 30H, 32H, 33H , 35H,
        DB      37H, 39H, 3BH, 3DH, 3FH, 40H, 42H, 44H, 46H,
        DB      48H, 4AH, 4CH, 4DH, 4FH, 51H, 53H, 55H, 57H
        DB      58H, 5AH, 5CH, 5EH, 60H, 61H, 63H

MSECOND EQU 19H      ;50 毫秒计数
SECOND  EQU 20H      ;秒计数
MINUTE  EQU 21H      ;分计数
POWER   EQU 23H      ;功率存放处
TIME    EQU 24H      ;时间存放处
POWERTEMP EQU 25h
incdig  EQU 26h
decdig  EQU 27h

        ORG      0060H
MAIN:   CLR      P2.7      ;继电器断
        ;CLR      P2.5
        MOV      SP, #60H
        MOV      SECOND, #0H
        MOV      MINUTE, #0H
        MOV      MSECOND, #0H
        MOV      POWER, #15H
        MOV      TIME, #15H
        MOV      incdig, #0h
        MOV      decdig, #0h

        ACALL    DigitalIni

```

```

KBP0:  ACALL    DISPLAY
        ORL     P3, #1FH          ;置键盘
        MOV     A, P3             ; read key
        CPL     A                 ;累加器取反
        SETB    ACC.4
        ANL     A, #1FH          ;屏蔽高五位
        JZ      KBP0             ;no key closed, detect again
        ACALL    D12MS           ;delay 12ms
        MOV     A, P3
        CPL     A
        SETB    acc.4
        ANL     A, #1FH
        JZ      KBP0             ;累加器为零转移
        JB      ACC.0, A0         ;judge closed keynumber
        JB      ACC.1, A1
        JB      ACC.2, A2
        JB      ACC.3, A3
        JB      ACC.4, A4
        AJMP    KBP0
A0:     AJMP    PR0 ;key treatment proccedure entrance, power key
A1:     AJMP    PR1             ; time key
A2:     AJMP    PR2             ; reset key
A3:     AJMP    PR3
A4:     AJMP    PR4

PR0:    LCALL    DISPLAY
        MOV     A, POWER
        CJNE    A, #2BH, PR01    ;!!!!
        AJMP    KBP0
PR01:   JNC     KBP0
        INC     POWER
        AJMP    KBP0

PR1:    LCALL    DISPLAY
        MOV     A, POWER
        CJNE    A, #0H, PR11     ;!!!!
        AJMP    KBP0
PR11:   JC      KBP0
        DEC     POWER
        AJMP    KBP0

```

```

PR2:   LCALL    DISPLAY
        MOV     A, TIME
        CJNE    A, #1EH, PR21
        AJMP    KBP0
PR21:  JNC      KBP0
        INC     TIME
        AJMP    KBP0

PR3:   LCALL    DISPLAY
        MOV     A, TIME
        CJNE    A, #0H, PR31
        AJMP    KBP0
PR31:  JC       KBP0
        DEC     TIME
        AJMP    KBP0

PR4:   MOV      A, power
        CJNE    A, #0h,next1
        AJMP    KBP0
next1: MOV      A, time
        CJNE    A, #0h,next2
        AJMP    KBP0
next2: ACALL    RUNNINGPRO

        AJMP    GAMEOVER

DigitalIni: MOV    INCDIG, #0H
            ORL     P0, #0e0h
            CLR     P0.7
            SETB    P0.6
UP:      CLR     P0.5
            NOP                     ; acall    delay10
            INC     incdig
            SETB    P0.5
            MOV     A, incdig
            NOP                     ; acall    delay10
            CJNE    A, #64h, UP
            SETB    P0.7
            RET

```

OUTPUTFUNCTION:

```

        MOV     INCDIG,#0H
        MOV     DPTR, #TABP
        MOV     A,POWER
        MOVC    A, @A+DPTR
        MOV     POWERTEMP, A
        CLR     p0.7
        CLR     p0.6
OutputP: CLR     p0.5
        NOP
        INC     INCDIG
        SETB    p0.5
        MOV     a, INCDIG
        DJNE    a, POWERTEMP, OutputP
        SETB    p0.7
        RET

RUNNINGPRO: CLR     p2.6           ;功率输出指示亮
        LCALL   OUTPUTFUNCTION
        SETB    p2.7           ;继电器通

timerIni: MOV     TMOD, #01H
        MOV     TL0, #0B0H       ;装入 50ms 参数
        MOV     TH0, #3CH
        SETB    EA
        SETB    ET0
        SETB    TR0             ;启动定时器 0

        LOOP:    LCALL   DISPLAY

        MOV     A, P3
        CPL     A
        SETB    acc.0
        ANL     A, #1FH
        JZ      CHANGE
        ACALL   D12MS
        MOV     A, P3
        CPL     A
        SETB    acc.0
    
```

```

        ANL      A, #1FH
        JZ       CHANGE
        JB       ACC.0, AP0
        JB       ACC.1, AP1
        JB       ACC.2, AP2
        JB       ACC.3, AP3
        AJMP     CHANGE
AP0:    MOV      A, POWER
        CJNE     A, #2BH, AP01
        AJMP     CHANGE
AP01:   JNC      CHANGE
        INC      POWER
        LCALL    DIGITALINI
        LCALL    OUTPUTFUNCTION
        AJMP     CHANGE

AP1:    MOV      A, POWER
        CJNE     A, #0H, AP11
        AJMP     CHANGE
AP11:   JC       CHANGE
        DEC      POWER
        CLR      P0.7
        SETB     P0.6
        CLR      P0.5
        AJMP     CHANGE

AP2:    INC      TIME
        AJMP     CHANGE

AP3:    DEC      TIME
        AJMP     CHANGE

CHANGE: SETB     P0.5
        SETB     P0.7
        MOV      A, TIME
        CJNE     A, #0H, CONTINURE
        AJMP     QUIT
CONTINURE: CJNE  A, #0FFH, CONTINURE1
        AJMP     QUIT
CONTINURE1: AJMP     LOOP
    
```

```

QUIT:      RET

D12MS:  MOV      R7, #45H ;      delay 24ms, 12MHz
D12MS1:  MOV      R6, #0F8H
          DJNZ     R6, $
          DJNZ     R7, D12MS1
          RET

D1MS:    MOV      R6, #2H
          NOP

D1ms1:   MOV      R7, #0F8H
D1ms2:   DJNZ     R7, D1ms2
          DJNZ     R6, D1ms1
          RET

DISPLAY: MOV      DPTR, #TAB
          ORL      P2, #0FH
          MOV      A, POWER      ;转换为十进制
          MOV      B, #0AH
          DIV      AB
          CLR      P2.0          ;选通第一个数码管 显示时间的十位
          MOVC     A, @A+DPTR
          MOV      P1, A
          ACALL    D1MS
          SETB     P2.0
          CLR      P2.1          ;选通第二个数码管 显示时间个位
          MOV      A, B
          MOVC     A, @A+DPTR
          MOV      P1, A
          ACALL    D1MS
          SETB     P2.1

          MOV      A, TIME      ;转换功率为十进制
          MOV      B, #0AH
          DIV      AB
          CLR      P2.2
          MOVC     A, @A+DPTR
          MOV      P1, A
          ACALL    D1MS

```



```

        SETB      P2.2
        CLR       P2.3          ;选通第二个数码管 显示时间个位
        MOV       A, B
        MOVC      A, @A+DPTR
        MOV       P1, A
        ACALL     D1MS
        SETB      P2.3
        RET

T0INT:  INC       MSECOND
        MOV       A, MSECOND
        CJNE      A, #14H, SS1   ;14
        INC       SECOND
        MOV       MSECOND, #0H
        MOV       A, SECOND
        CJNE      A, #3CH, SS1   ;3c
        DEC       TIME
        MOV       SECOND, #0H
        SS1:      MOV       TH0, #3CH
        MOV       TL0, #0B0H
        RETI

GAMEOVER:CLR     p2.7
        SETB      p2.6
        MOV       R5, #03h
DL:      CLR      p2.5
        MOV       R2, #06H
DLL:     MOV      R4, #0FFH
DL1:     MOV      R3, #0ffH

DL2:     DJNZ     R3, DL2
        DJNZ     R4, DL1
        DJNZ     R2, DLL
        SETB      p2.5
        ACALL     D12MS
        DJNZ     R5, DL
        END
    
```

个人简历和研究成果

杨小燕，女，汉族，1974年10月出生。

1998年至2003年，西安卫星测控中心工作。

2003年至今，就读于第四军医大学生物医学工程系。

硕士期间发表论文：

杨小燕，杨继庆. 半导体激光的医学应用，医疗卫生装备，
2005，26（6）：21-23

杨小燕，杨继庆，屈学民 智能型半导体激光治疗仪的开发
研制，医疗卫生装备，2005，26（12）：5-6

杨小燕，杨继庆 半导体激光照射对耐药细菌最低抑菌浓度
的影响及分析，中国医学物理学杂志，2006，23（2）：111-113

致 谢

感谢我的导师杨继庆教授。三年来他不仅在学习和工作上督促和指导我，而且在生活上对我非常关心，让我感到无比的温暖。

感谢我的指导老师屈学民副教授。他严谨的作风、一丝不苟的态度和忘我的工作热情令我终生难忘，是我学习的榜样。

感谢文峻教授，他曾在工作中给我很多忠告和建议，往往使我茅塞顿开，同时他身上所展现的人格魅力给我留下极为深刻的印象；感谢龙开平博士，他对我的研究生学习提出了很好的建议，帮助我不断进步，与他的谈话总是让我收获颇丰；感谢王斯刚副教授，他在教学和实验中都给了我很多帮助；感谢范云副教授，他常常与我谈心，对我生活的关心让我如沐春风；感谢刘渊声、李海涛，与他们在一起共同学习非常融洽快乐。这三年来与教研室的老师们共同工作和生活的经历是我人生中最为宝贵的财富。在数理教研室学习工作的这段经历将会令我受益终身。

感谢尹文教授，感谢徐修礼老师，他们的钻研精神使我感动，从他们那里我学到了医学实验方法和对待科学研究的严谨态度。感谢我的家人，他们教会我热爱生活、直面挫折、乐观向上，我的每一点进步都离不开他们的关心和鼓励。

感谢所有曾经帮助过我的人。