# تأثير اشعة الليزر الدايودي المرئية وتحت الحمراء على بعض انواع البكتريا المعزولة من اصابات مختلفة من جلد الانسان

**سرا حميد نايف**

قسم علوم الحياة - كلية العلوم - جامعة تكريت - صلاح الدين - العراق

## الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في مختبرات كلية العلوم/ جامعة تكريت لمعرفة تأثير أشعة الليزرالدايودي المرئية وبطول موجي 600 نانوميتر وليزرالاشعة تحت الحمراء وبطول موجي 800 نانوميترعلى بعض انواع البكتريا التي تسبب الاصابات الجلدية وكانت العزلات البكتيرية التي اجري لها التشعيع هي *E.coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus saprophyticus* وكان لليزر المستخدم تأثير مختلف على نمو الاحياء المجهرية حيث كانت *Staphylococcus aureus* و *E.coli* اكثر انواع البكتريا تأثراً بأشعة الليزر الدايودي المرئية عند 15 ثانية فقد كانت نسبة النمو 40% بينما كان للاشعة تحت الحمراء تأثير واضح على جميع انواع البكتريا حيث كانت نسبة نموها 40% عند 15 ثانية ماعدا بكتريا *E.coli* التي انعدم نموها عند 10و15 ثانية.. كما تم اجراء فحص الحساسية للعزلات البكترية قبل وبعد التعريض للاشعة المرئية وتحت الحمراء لليزر الدايودي. اختلفت الحساسية للمضادات باختلاف الانواع البكترية والاشعة المستخدمة ومدة التشعيع فعند تشعيع بكتريا *Staphylococcus aureus* لاشعة الليزر المرئية لمدة(10،5و15) ثانية اصبحت حساسة لمضادات الاميكاسين والفانكومايسن والاوكساسيلين اما *Staphylococcus saprophyticus* فقد زادت حساسيتها لمضاد الفانكومايسين وكذلك الحال بالنسبة لبكتريا *E.coli* فقد اصبحت حساسة للفانكومايسين وزادت حساسيتها تجاه الاوكساسيلين لدى 5 و15 ثانية .لقد اختلفت النتائج عند تشعيع العزلات البكترية باشعة الليزر تحت الحمراء فقد اصبحت بكتريا*Staphylococcus aureus* اصبحت حساسة لميكاسين والفانكومايسين لكن *Staphylococcus saprophyticus* لم تتغير حساسيتها تجاه المضادات المستخدمة سوى انها اصبحت اكثر مقاومة للفانكومايسين والاوكساسلين اما بكتريا *E.coli* اصبحت حساسة للسبروفلوكساسين،الاميكاسين، الفانكومايسين والاوكساسلين عند تشعيعها لمدة 5 ثواني. زادت حساسية بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* لمضاد الاميكاسين عند تعريضها لاشعة الليزر الدايودي المرئية وتحت الحمراء بزيادة زمن التعريض الى 15 ثانية.

**الكلمات المفتاحية** :ليزر الدايود المرئي المستمر، ليزر اشعة تحت الحمراء الدايودي المستمر،بكتريا الجلد ومضادات حيوية.

تأثير اشعة الليزر الدايودي المرئية وتحت الحمراء على بعض انواع البكتريا المعزولة من اصابات مختلفة من جلد الانسان

سرا حميد نايف

# Effect the visible and Infra Red Rays of Diode laser on some types of bacteria isolated from different infects of human skin

**Sura Hameed Nayyef**

Department of Biology - Science College - Tikrit University -Salahuddin-Iraq

surabio84@tu.edu.iq

**Received 22 August 2016** **Accepted 18 October 2016**

## Abstract

This study was carried out in laboratories of college sciences/ Tikrit University to investigate effect of visible diode laser with wave length (600) nanometer and Infra Red Diode laser with wave length (800) nanometer on some types of bacteria that isolated from different infects of human skin. All isolates that exposed to laser irradiation were *E.coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus saprophyticus, Pseudomonas aeruginosa.* Bacterial growth differ according to laser's ray type that used in the irradiation. Most bacteria effected with visible laser ray at 15 seconds were *E.coli and Staphylococcus aureus*, the growth rate was 40%, while all bacterial isolates were effected with infra red ray, the growth rate of bacterial isolates was 40% except *E.coli* the growth was absent at 10 and 15 seconds. Sensitivity test was done after and before irradiation with two type of laser diode rays to all bacterial isolated and the results were different according to type and time of the laser radiation. *Staphylococcus aureus* became sensitive to Amikacin, Vancomycin and Oxacillin antibiotics after irradiation with visible laser diode for (5,10 and 15) seconds, while sensitivity of *Staphylococcus saprophyticus* was increased to Vancomycin also *E.coli* became sensitive to Vancomycin sensitivity increased to Oxacillin at 5 and 15 seconds. Results was different when the bacterial isolated irradiated to Infra Red laser diode. *Staphylococcus aureus* became to Amikacin and Vancomycin but the sensitivity of *Staphylococcus saprophyticus* to all antibiotics not different just become more resistant to Vancomycin and Oxacillin while *E.coli* became sensitive to Ciprofloxacin, Amikacin, Vancomycin and Oxacillin with irradiation at 5 seconds. The sensitivity of

*Pseudomonas aeruginosa* increased to Amikacin after irradiation with visible and Infra-Red laser diode for 15 seconds.

**Key words**: continuous visible diode laser, continuous Infra-Red diode laser, bacteria and antibiotics.

## المقدمة

منذ نهاية القرن الماضي حظي الليزراهتماماً واسعاً من قبل العلماء حيث انبثق الاهتمام بالعلاج الضوئي وخاصة الليزر منخفض الطاقة مما ادى الى احداث سلسلة من التغيرات في تطورالعلم في مجالات العلوم والتكنلوجيا شملت علوم الفيزياء، الكيمياء وعلوم الحياة [1] اصبح استعمال الليزر في المجالات العلمية اساسياً لما يمتلك من صفات تفوق صفات الضوء الذي ينتج من المصادر المعروفة حيث استخدم لقتل المايكروبات وبشكل مباشر بالاعتماد على التحسس الضوئي لها وانتقال الالكترونات هذا بالاضافة الى تطبيقاته المختلفة في المجالات الصناعية والطبية واستخداماته في طب العيون وفي وتعقيم وتطهير وعلاج جروح الجلد الملتهبة او المصابة والانسجة الرخوة بالاعتماد على تطبيقات الضوء المرئي والاشعة تحت الحمراء وكذلك في جراحة الاعصاب وفي مجالات اخرى [2] [3] ويشير مصطلح الليزرlaser الى تضخيم وتمديد الضوء بواسطة تكوين حزمة عمودية مكثفة من الضوء الانبعاث حيث اقترحت النظرية الاساسية لهذا الاشعاع عام 1917 من قبل العالم Albert Enstein [4][5]. جاءت فكرة علاج الاصابات الجلدية بالليزر من قدرة الضوء على اختراق طبقات الجلد (البشرة وتحت البشرة وصولاً الى الانسجة الدهنية تحت الجلد) وبجميع الاطوال الموجية وبالحدود المرئية ، ان الطول الموجي للضوء القريب من حدود الطول الموجي للاشعة تحت الحمراء له القدرة على الاختراق والالتصاق بشكل اعمق من جميع الاطوال الموجية للضوء المرئي[6] [7] ان العديد من انواع الليزر استخدمت وبصورة ناجحة لعلاج حالات مختلفة من الاصابات التي تسببها بعض الانواع البكتيرية مثل *E.coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa.* [8] حيث ان اغلب الدراسات تركزت حول تأثير الليزر على البكتريا اذ ان اغلبها كان متعلقاً بحساسية المضادات الحياتية للأحياء المجهرية فقد قدمت العديد من الدراسات حول بعض المواد المؤثرة على نمو المايكروبات مثل مضادات البيتا لاكتام وغيرها لكن اكتساب بعض انواع البكتريا كبكتريا *S. aureus* صفة المقاومة للبنسلين ومشتقاته وكذلك لانواع كثيرة من المضادات الحياتية احدث معركة مستمرة في صناعة مضادات جديدة للقضاء على هذه البكتريا. ولهذا السبب ادخل الليزر في حقول متعددة ليقدم حلولاً بديلة للعديد من المشاكل وفي نفس الوقت امنة [9].

تهدف هذه الدراسة معرفة تأثير اشعة الليزر الدايودي المرئية وتحت الحمراء على نمو بعض انواع البكتريا المعزولة من اصابات جلدية مختلفة ومعرفة حساسيتها تجاه بعض المضادات الحياتية قبل وبعد تعريضها لاشعتي الليزر الدايودي المستخدمة في الدراسة.

## المواد وطرائق العمل

**-جمع العزلات**

جمعت عزلات البكتريا قيد الدراسة من اصابات مختلفة من جلد الانسان شملت اصابات الحروق والجروح والبثور وقد اختيرت هذه العزلات لاهميتها من الناحية الامراضية و الطبية . حيث زرعت على اوساط زرعية مختلفة شملت اوساط اكار الدم ،الاكار المغذي والماكونكي اكار بالاضافة الى الاوساط التشخيصية مثل وسط اكار المانيتول الملحي ووسط الايوسين ازرق المثيلين ذلك بعد تشخيص الاصابات للحالات المرضية بهذه البكتريا.حضنت الاوساط المزروعة في الحاضنة بدرجة 37م° ولمدة 24 ساعة.

**-التشخيص للعزلات**

اجري تشخيص العزلات اعتماداً على ماجاء به[10، 11 و12] حيث تشخصت العزلات المنتخبة والمنماة على الاوساط الزرعية مظهرياً على اساس الشكل، الحجم ،اللون، حافاتها وارتفاعها بالاضافة للتغيرات التي تحدثها على الاوساط التشخيصية. كما تم تشخيص العينات مجهرياً على اساس تقبلها او عدم تقبلها لصبغة كرام بالاضافة الى ترتيب الخلايا البكتيرية وشكلها وحجمها. اما الفحوصات البايوكيميائية والتي شملت فحص الكاتاليز، فحص الاوكسيديز، اختبار تجلط البلازما، اختبار الاندول، اختبار احمر المثيل، اختبار الفوكاس بروسكار، اختبار استهلاك السترات و اختبار انتاج اليوريز .

**-اختبار حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية قبل التشعيع بالليزر الدايودي**

نشر اللقاح البكتيري على وسط اكار مولر هنتون الصلب Muller-Hinton Agar بطريقة النشر وباستخدام المسحة القطنية ثم ثبتت اقراص المضادات الحيوية (E) Erythromycin بتركيز ( 15µg)، Ciprofloxacin (CIP) بتركيز ( 5µg)، Nitrofurantoin (NI) بتركيز(300µg)، Trimethoprim (TMP) بتركيز ( 5µg)، Amikacin (AK) بتركيز ( 30µg )، Vancomycin (VA) بتركيز ( 30µg)، Oxacillin (OX) بتركيز ( 5µg)، Cefixeme (CFM) بتركيز (5 µg)، Tetracycline (TE) بتركيز ( 30µg )، Amoxicillin (AX) بتركيز (25µg)). باستخدام الملقط المعقم وحضنت الاطباق بدرجة 37م° لمدة 18 ساعة ثم قيست منطقة التثبيط بوحدة الملمتر باستخدام المسطرة ودونت النتائج اعتماداً على قطر منطقة التثبيط [11].

**-مواصفات الليزر المستخدم في الدراسة**

استخدم نوعين من الليزر الدايودي ذو الطول الموجي المستمر Laser Diode Continuous Wave (CW) في تشعيع العزلات البكتيرية وتم اجراء ذلك في مختبرات كلية العلوم / جامعة تكريت حيث كان الليزر المستخدم ذو خرج طاقة مقدارها 5 ملي واط وبمسافة 10سم وقطر الحزمة بحدود 0.5 سم:

**النوع الأول**: ليزر الاشعة المرئية Visible laser وبطول موجي 600 نانوميتر.

**النوع الثاني**: ليزر الاشعة تحت الحمراء laser Infra red (IR) وبطول موجي 800 نانوميتر.

**طريقة تشعيع العزلات البكتيرية**

تم تحضير العالق البكتيري وذلك بزرع كل نوع بكتيري في انابيب حاوية على وسط المرق المغذي، وحضنت الانابيب بدرجة 37 م لمدة 18-24 ساعة بعدها تم نقل 0.1 مل من العالق البكتيري الى انبوب ابندورف المعقم والحاوي على 0.9% من المحلول الفسلجي (تم عمل خمس تخافيف لكل عزلة بكتيرية) حيث قسمت الانواع البكتيرية المخففة الى مجموعتين، شععت كل مجموعة الى نوع من الليزر (المذكور سابقاً ) وبأوقات زمنية مختلفة (5,10,15) ثانية. بعدها تم نقل 0.1 من كل تخفيف مشعع الى طبق حاوي على وسط الأكار المغذي حيث تم النشر باستخدام قضيب زجاجي معقم بالكحول واللهب ثم حضنت الاطباق بدرجة 37م لمدة 18-24 ساعة [6] [13] بعدها سجلت النتائج .

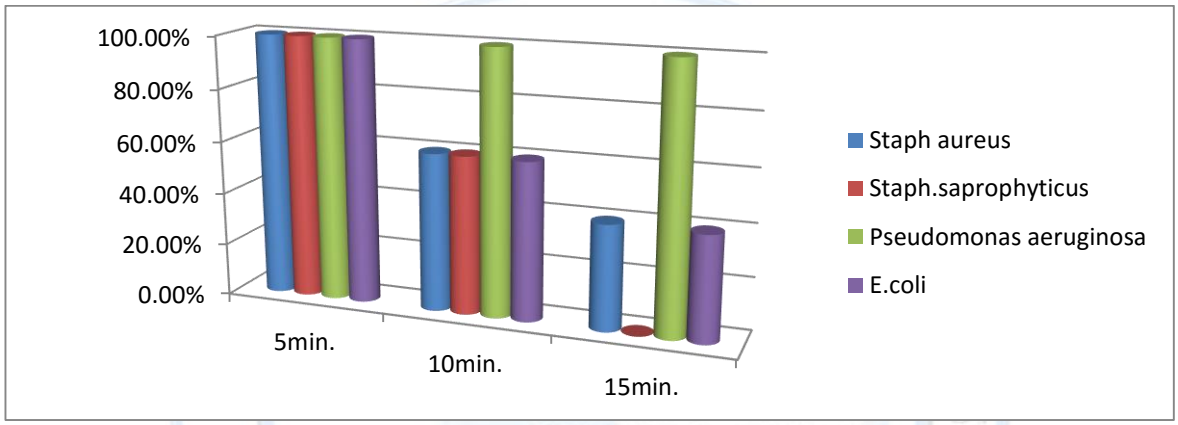
**-اختبار حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية بعد التشعيع بالليزر الدايودي:**

اختبرت حساسية البكتريا قبل التشعيع اعتمادا على ما جاء به[14] حيث نقل 0.1 مل من المعلق البكتيري المشعع بالليزر الى انابيب زجاجية معقمة حاوية على 10 مل من وسط المرق المغذي (حجم اللقاح 1:10)، حضنت الانابيب بدرجة 37ºم لمدة 24 ساعة وتحت ظروف هوائية. ولاجراء فحص الحساسية على وسط Muller Hinton Agar تم تثبيت اقراص المضادات الحيوية باستخدام ملقط معقم بعد نشر 0.1 مل من العالق البكتيري على سطح الوسط كما تم اجراء فحص الحساسية لنفس الانواع البكتيرية غير المشععة بالليزر (كعينات سيطرة) لغرض المقارنة. حضنت الاطباق بدرجة حرارة37ºم لمدة 18 ساعة وقيست منطقة التثبيط Inhibition zone بوحدة الملم ثم سجلت النتائج بالاعتماد على قطر منطقة التثبيط.

## النتائج والمناقشة

من خلال النتائج الموضحة في الشكل (1) الذي يبين تأثير الأشعة المرئية Visible لليزر الدايودي ذو الطول الموجي 600 نانوميتر على نمو البكتريا وبفترات زمنية مختلفة (5، 10و 15 ) ثانية حيث كان لهذه الاشعة تأثيراً متفاوتاً على نمو العزلات البكتيرية. فقد كانت نسبة نمو الانواع البكتيرية( *Staphylococcus aureus, Staphylococcus saprophyticus, E.coli*) 60% بعد تعريضها لهذه الاشعة لمدة 10 ثواني و 40% بالنسبة لبكتريا *Staphylococcus aureus, E.coli*) بعد تعريضها لمدة 15 ثانية ، هذه النتيجة لاتتفق مع [15] الذي اوضح عدم تأثرنمو *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح في التجربة وفي مجاميع السيطرة بعد التعرض لليزر كما لم تتفق النتيجة مع بعض الدراسات التي قام بها [16] على بكتريا *E.coli* حيث لاحظوا زيادة في نمو البكتريا بعد تعريضها لليزر واطيء الطاقة. لم يظهر اي تأثير لهذا النوع من الاشعة الليزرية اي تثبيط لنمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* فقد كانت نسبة نموها 100% بعد التعريض وبكافة الفترات الزمنية المذكورة هذه النتيجة اتفقت مع [17] التي لم تلاحظ اي تغيير في نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عند تعريضها لأشعة الليزر الدايودي واطيء الطاقة[18]، من خصائص الليزر واطيء القدرة انه ذو تأثير حراري- كيميائي وليس حراري فقط كما يعتبر ضوء الليزر متشاكهاً وذو طول موجي احادي ويعاني من عدة حالات كالاستطارة والانعكاس والنفوذية والامتصاص اعتماداً لخاصية المادة الحية. حيث يمكن ان تعبر الفوتونات الخلية دون ان يحدث امتصاص لها وتبقى التغيرات اولية ولاتصل الى DNA الخلية البكتيرية[19]. ان عدم تأثر بكتريا *Staphylococcus aureus* بأشعة الليزريرجع الى وجود الطبقة الخارج خلوية Biofilm والتي تجعل الخلية البكتيرية

اكثر مقاومة لدرجات الحرارة العالية والجفاف[20] كما ان امتلاك الغشاء الخارجي لمتعدد السكريد الشحمي في البكتريا السالبة لصبغة كرام الذي يعمل كحاجز لنفاذية الاشعة الليزرية الى داخل الخلية كما لم يظهر تأثير تثبيطي لاشعة الليزر المرئية عند تعريض العينات البكتيرية لمدة 5 ثواني وهذا يتفق مع نتيجة [21] الذي لاحظ عدم تأثر البكتريا باشعة الليزر الدايودي ذو الطول الموجي 660 نانوميتر حيث لم يسبب اي تحفيز حيوي بايولوجي مؤثر على البكتريا فمن خلال التعداد الحيوي الكلي للخلايا البكتيرية لم يلاحظ تكوين اي منطقة تثبيط او انعدام للنمو في المناطق المعرضة للتشعيع حيث كان النمو متساوي في الاطباق المشعة وغير المشعة.



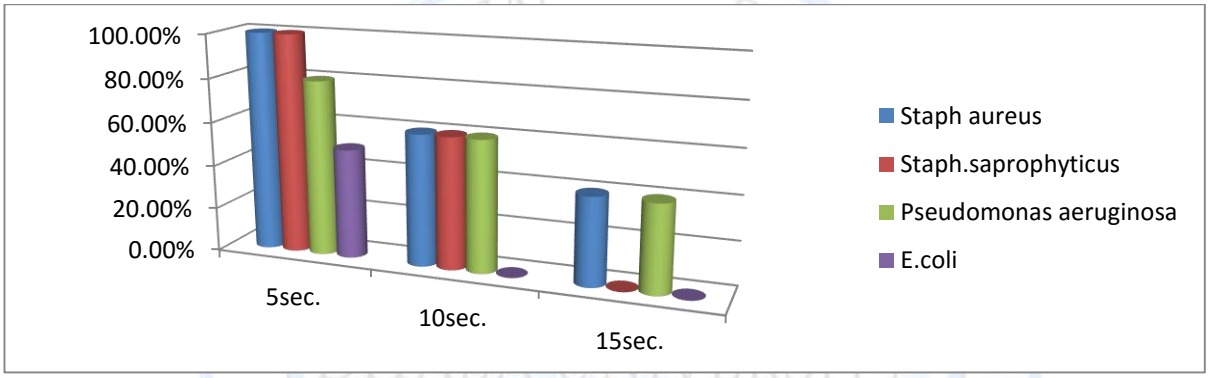

**شكل (1) تأثير الاشعة المرئية لليزر الدايودي المستمر .C.W على نمو البكتريا**

في الشكل (2) يوضح النسبة المئوية لنمو البكتريا المعرضة لأشعة الليزر تحت الحمراء Infra Red (IR) فقد تفاوتت نسب النمو ايضاً باختلاف الانواع البكتيرية وباختلاف الفترات الزمنية للتعريض للاشعة . فعند تعريض الانواع البكتيرية لاشعة الليزر تحت الحمراء لمدة 5 ثواني لم يلاحظ فيها اي تثبيط لنمو بكتريا *Staphylococcus aureus, Staphylococcus saprophyticus)* ولكن بالنسبة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* فقد انخفضت نسبة نموها الى 80% وهذا لايتفق مع [22] التي وجدت ان لاشعة الليزر تحت الحمراء تأثيراً محفزاً لنمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* .

اما بكتريا *E.coli* انخفضت الى 50% لكن عند زيادة فترة التعريض الى 10 و15 ثانية فان نسبة نمو *Pseudomonas aeruginosa* قد اصبحت (60% و 40%) على التوالي في حين ان *Staphylococcus aureus, Staphylococcus saprophyticus* انخفضت نسبة نموها الى 60% عند تعريضها لمدة 10 ثواني . ان زيادة فترة تعريضه بكتريا *E.coli* و *Staphylococcus saprophyticus* الى 15 ثانية قد اثر بصورة واضحة عليها اذ انعدم نموهما بشكل تام .,ويمكن ملاحظة نفس النتيجة وبنفس الوقت عند تعريض *Staphylococcus saprophyticus* للاشعة المرئية لليزر الدايودي.

ان التداخل المشترك الحاصل بين اشعة الليزر وجدار الخلية يعتمد بصورة اساسية على الطول الموجي وعلى خرج الطاقة لاشعة الليزر فعند اصطدامها بجدار الخلية البكترية فان هذه الطاقة سوف تمتص وعند دخولها الخلة البكتيرية فانها تزيد من حركة الجزيئات الخلوية بالاظافة الى ازدياد درجة حرارة الجدار الخلوي وبهذا فان ناتج المتصاص توليد طاقة حرارية

من الطاقة الضوئية وهذا يؤدي الى تحطم الجدار الخلوي وخروج المحتويات الحية للخلية [23] .انعدم نمو بكتريا *E.coli* بشكل تام عند تعريضها للاشعة تحت الحمراء لمدة 10 و15 ثانية. وهذا يتفق مع [24] حيث لاحظوا انعدام نمو بكتريا *E.coli* بزيادة فترة التعريض لاشعة الليزر لمدة 10 دقائق ان الانخفاض الواضح لنمو البكتريا قد يعود الى الانقسام الخلوي العشوائي بعد تنشيط بعض مكونات السلسلة التنفسية وهذا يغير من طور الاكسدة للسايتوبلازم كالتغير في تحرير ايونات الهيدروجين +H وزيادة ال ATP في الخلية وهذا سيسهم في تكوين خلايا بكتيرية صغيرة جديدة [13] وبالتالي سيحصل تغير في مكونات الغشاء الخارجي للخلية البكتيرية حيث تحصل عملية اطالة في سلسلة متعدد السكريد الدهني (LPS ) لهذه الخلايا المتكونة الجديدة مما يؤدي فيما بعد الى موت هذه الخلايا الجديدة[25][26].




**شكل (2) تأثير الأشعة تحت الحمراء لليزر الدايودي المستمر C.W. على نمو البكتريا**

**جدول (2) حساسية البكتريا لبعض انواع المضادات الحياتية قبل تعريضها لاشعتي الليزر الدايودي النوع المستمر(المرئية وتحت الحمراء)**

| *Pseuomonas aeruginosa* | *E.coli* | *Staphylococcus Saprophyticu* | *Staphylococcus aureus* | نوع البكتريا / نوع المضاد |
|---|---|---|---|---|
| R | R | R | R | E |
| S | R | S | S | Cip |
| R | S | S | S | Ni |
| R | R | S | S | TMP |
| I | S | S | R | AK |
| R | R | I | R | VA |
| R | R | I | R | OX |
| R | R | R | R | CFM |
| R | S | S | R | TE |
| R | R | R | R | AX |

،Amikacin :(AK) ،Trimethoprim :(TMP) ،Nitrofurantoin :(NI) ، Ciprofloxacin :(CIP) ،Erythromycin :(E)

Amoxicillin :(AX) ،Tetracycline:(TE) ،Cefixeme:(CFM) ،Oxacillin :(OX) ،Vancomycin :(VA)

**جدول رقم (3) حساسية البكتريا لبعض انواع المضادات الحياتية بعد تعريضها لاشعتي الليزر الدايودي من النوع المستمر (المرئية وتحت الحمراء) وبفترات زمنية مختلفة .**

| | المعرضة لأشعة الليزر من النوع المرئي | | | | | | | | | | | | المعرضة لأشعة الليزر من النوع تحت الحمراء | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| نوع البكتريا | *Staphylococcus aurens* | | | *Staphylococcus Saprophyticus* | | | *E.coli* | | | *Pseudomonas aeroginosa* | | | *Staphylococcus aurens* | | | *Staphylococcus Saprophyticus* | | | *E.coli* | | | *Pseudomonas aeroginosa* | | |
| الوقت Sec. / نوع المضاد | 5 | 10 | 15 | 5 | 10 | 15 | 5 | 10 | 15 | 5 | 10 | 15 | 5 | 10 | 15 | 5 | 10 | 15 | 5 | 10 | 15 | 5 | 10 | 15 |
| E | R | I | S | R | R | - | R | R | - | S | I | R | R | R | R | I | I | I | - | R | R | S | I | R |
| Cip | S | S | S | S | S | - | S | S | - | R | S | S | S | S | R | S | S | S | - | I | I | S | S | S |
| Ni | S | I | S | S | I | - | R | R | - | S | S | S | R | R | R | S | I | S | - | I | R | S | I | R |
| TMP | S | R | S | R | R | - | R | R | - | R | S | R | R | R | R | R | R | S | - | R | R | S | R | R |
| AK | S | S | S | S | S | - | S | S | - | S | S | S | S | I | R | S | S | S | - | S | S | S | S | S |
| VA | S | S | S | S | S | - | S | S | - | S | S | S | R | R | R | S | I | S | - | S | S | S | S | R |
| OX | S | I | S | R | R | - | R | R | = | S | R | I | R | R | R | I | I | R | - | R | R | S | I | R |
| CFM | R | R | I | R | R | - | R | R | - | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | R | R | R | R | R |
| TE | R | R | I | R | R | - | S | S | - | S | S | R | R | R | R | S | S | S | - | S | S | I | R | R |
| AX | R | R | R | R | R | | R | R | - | R | R | R | R | R | R | R | R | R | - | R | R | R | R | R |

**Sec.: الوقت بالثانية.**

**الاشارة (-): تعني لم يجرى الاختبار لانعدام النمو.**

**S:حساسة للمضاد.**

**R:حساسة للمضاد.**

**I:متوسطة الحساسية.**

من خلال النتائج التي ظهرت في الجدول (3) الذي يوضح تأثير المضادات الحياتية المبينة في جدول (1) على انواع مختلفة من البكتريا والمعرضة لنوعين من اشعة الليزرالدايودي المستمر (المرئية وتحت الحمراء) وبأوقات زمنية (5، 10 و15) ثانية وبالمقارنة مع النتائج المبينة في الجدول (3) الذي يوضح تأثير المضادات الحياتية على نفس الانواع البكتيرية وفقا لما

جاء في[27] بدون تعريضها لاشعة الليزر. حيث أظهرت النتائج ظهور تباين في تأثير المضادات الحيوية على الأنواع البكتيرية المنتخبة وحسب نوع أشعة الليزر المستخدمة، فقد كانت بكتريا *Staphylococcus aureus* هي من اكثر الانواع البكتيرية التي اصبحت اكثر حساسية للمضادات الحياتية بعد تعريضها لأشعة الليزر المرئية حيث اختلفت حساسيتها باختلاف زمن التعريض للأشعة. اذ اصبحت حساسة للمضاد (الأوكساسيلين) وبزمن (5 و 15 ثانية) بعد ان كانت مقاومة له ،هذه النتيجة اتفقت مع [28] واخرون حيث وجدوا ان حساسية *Staphylococcus aureus* تجاه المضادات تزداد بعد التعريض لاشعة الليزر الدايودية كذلك اتفقت النتائج مع[29] الذي وجد تأثير الليزر الدايودي يزيد من حساسية البكتريا للمضادات الحياتية مع زيادة الوقت وجرعة التعريض لليزر بينما لا تتفق النتائج مع [30] الذي وجد انه لاتأثير لأشعة الليزر على حساسية بكتريا *Staphylococcus aureus* للمضادات وكما مبين في النتائج المدونة في الجدول (3) قبل التشعيع بالليزر الدايودي المرئي كانت مقاومة للاوكساسلين هذه النتيجة اتفقت مع [31] كما كانت حساسة النايتروفيورانتوين والترايمثوبريم لكن بعد التشعيع بزمن 10 ثواني اصبحت متوسطة الحساسية لكل من الأوكساسيلين والنايتروفيورانتوين ومقاومة للمضاد الحياتي (الترايمثوبريم). كما اصبحت *Staphylococcus aureus* حساسة لمضادات الأميكاسين والفانكومايسين عند تعريضها لمدة 5و 10 ثواني بعد ان كانت مقاومة لهما وكذلك الحال بالنسبة لبكتريا *Staphylococcus Saprophytic* .ان زيادة حساسية البكتريا للمضادات الحيوية بعد تعريضها لاشعة الليزر يعود الى حصول معالجة ديناميكية ضوئية للخلايا البكتيرية حيث يحدث مسخ لمكونات الغشاء والجدار الخلوي للبكتريا من خلال تكوين اجسام وسطية وحواجز غير مترابطة[32 و33].

لكن لأشعة الليزر كان له دور في تغيير حساسية بكتريا *Staphylococcus Saprophytic* وبكتريا *E.coli* تجاه مضاد النايتروفيورانتوين حيث تغيرت حساسية البكتريا لهذا المضاد من حساسة قبل تعريضها للأشعة الى مقاومة عند تعريضها لمدة 5 ثواني كما لوحظ عودة حساسية *Pseudomonas aeruginosa* لمضاد السبروفلوكساسين عند تعريضها لاشعة الليزر الدايودي المرئية لمدة 10 و15 ثانية بعد ان كانت مقاومة له لدى تعريضها لمدة 5 ثواني.كما زادت حساسيتها للاميكاسين بزيادة فترة التعريض الى 15 ثانية بعد ان كانت متوسطة المقاومة له. وهذا يعود الى (ان التغييرفي حساسية البكتريا للمضادات الحياتية بعد المعالجة باشعة الليزر الدايودية يمكن ان يكون له صلة بالتأثير المشترك لليزر والمضاد الحياتي مما يجعل جدار الخلية البكتيرية اكثر حساسية، حيث يحدث تغيير في نظام الدفق(Efflux pump) الذي يعتبر المسؤول الرئيسي عن حساسية اومقاومة البكتريا للمضادات الحياتية بم يعني فشل البكتريا في انتاج انزيمات خاصة التي تحور المضادات الحياتية كيميائياً وهذا ربما يزيد من حساسية البكتريا للمضادات [34 ،35، 36 و37].

عند تعريض العينات البكتيرية لأشعة الليزر تحت الحمراء فقد اعطت نتائج مختلفة مقارنة مع نفس العينات قبل تعريضها لأشعة الليزر تحت الحمراء زيادة زمن تعريض *Staphylococcus aureus* لأشعة الليزر الدايودي تحت الحمراء زاد من حساسيتها لمضاد الاريثرومايسين بعد ان كانت مقاومة له عند 5 ثواني. ان زيادة فترة التعريض الى 15 ثانية جعل هذه البكتريا تصبح مقاومة للمضادين (السبروفلوكساسين والتتراسايكلين) ولكن بنفس الوقت زادت حساسيتها قليلاً تجاه مضاد الاوكساسيلين حيث اصبحت البكتريا متوسطة الحساسية بعد ان كانت مقاومة له قبل تعريضها للاشعة. كذلك اظهرت بكتريا *Staphylococcus aureus* حساسية واضحة تجاه الترايمثوبريم عند عند تعريضها للأشعة لمدة 10 ثواني وهذه النتيجة

اتفقت مع [24] الذين وجدوا حساسية *Staphylococcus aureus* تجاه مضاد الترايميثوبريم حيث بلغ قطر التثبيط 33ملم بعد التشعيع بليزر الدايود لكنها عادت مقاومة له عند زيادة فترة التعريض الى 15 ثانية. كما ابدت هذه البكتريا حساسية واضحة تجاه المضادين (الأميكاسين والنايتروفيورانتوين) بعد ان كانت مقاومة لهما قبل التعريض للاشعة تحت الحمراء.

ومن خلال النتائج المبينة اظهرت بكتريا *Staphylococcus Saprophyticus* مقاومة لمضاد الترايميثوبريم عند تعريضها لاشعة الليزر تحت الحمراء لفترة 5 و 10 ثواني بعد ان كانت حساسة لهذا المضاد. ايضا بعد تعريضها للأشعة ابدت مقاومة تجاه الأوكساسيلين وحساسية للفانكومايسين بعد ان كانت متوسطة الحساسية لمضاد الفانكومايسين والاوكساسلين. ان الزيادة في حساسية البكتريا لبعض المضادات ربما يعزى الى حصول تثبيط لارجعي لفاعلية الدنا البلازميدي بسبب تحطيمه او فقدانه مما يؤدي الى عدم تكوين الانزيمات المسؤلة عن مقاومة المضادات التي تشفر بلازميدياً كما ان اشعة الليزر لها تأثير على البكتريا وذلك بتقليل عدد البكتريا عن طريق زيادة وقت التشعيع حيث ان كل نوع ليزري طريقة مختلفة في قتل المايكروبات[24] التأثيرالتراكمي لضوء الليزر والحرارة له تأثير على النظام الانزيمي في الشاء السايتوبلازمي وبعض بروتينات الغشاء الخارجي للبكتريا السالبة لصبة جرام والتي تلعب دوراً مهماً في مقاومة البكتريا للمضادات الحياتية حيث يلعب سايتوكروم c في الخلايا حقيقية النواة دور رئيسي في توليد الطاقة الحيوية للخلية وسايتوكروم β المعقد في الخلايا بدائية النواة والذي يعتقد انه جزيئات مستقبلة لاشعة الضوء الحمراء او قريبة من تحت الحمراء ( IR)[38].

ان للمضادات الحيوية (الايرثرومايسين ،السبروفلوكساسين، الترايموثوبريم، الفانكومايسين والاوكساسيلين) تأثيراً واضحاً على بكتريا *E.coli* عند تعريضها لمدة 5 ثواني بعد ان كانت مقاومة لها . ان جميع انواع البكتريا لم تتأثر بأشعتي الليزر المرئية وتحت الحمراء من حيث مقاومتها للأموكسسلين. كذلك بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* لم تتأثر كثيراً بتعريضها لأشعة الليزر بنوعيها تحت الحمراء والمرئية في مقاومتها للمضادات سوى انها ازدادت مقاومة للأميكاسين عند تعريضها لأشعتي الليزر الدايودية لمدة 5 ثواني بعد ان كانت متوسطة الحساسية قبل التعريض ثم ازدادت حساسيتها تدرجياً له بزيادة زمن التعريض الى10 و15 ثانية. ويعتقد ان مقاومة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* لاغلب المضادات الحياتية يعود الى انتاج بعض السلالات المخاطية التابعة لهذه البكتريا لمادة Alginate polysaccharide الخارج خلوي الذي يعتبر حاجز ضد تسرب او دخول المضادات الحيوية الى الخلية البكتيرية[39و40]. كما ان انتاج(Biofilm) من قبل هذه البكتريا يعمل على ابطاء انتشار او دخول المضادات الى الخلية وبالتالي يحصل تحوير في الهدف لهذه المضادات[41و42]. ان عدم تأثرهذه البكتريا بالمضادات حتى بعد التشعيع بالليزر ربما يعود الى وجود هذه الطبقة المخاطية التي تعمل كحاجز لدخول الاشعة ولذلك ربما تحتاج الى وقت اطول لاختراق هذا الجزء.

## References

1. مشاري، جاسب عبد الحسين، كاظم قاسم الربيعي، اسراء طالب عبد علي. (2011).تاثيرات نسجية لضوء الليزر بطوليين موجيين مرئيين على التئام جروح الجلد السطحية في الفئران المختبرية Balb/c. *مجلة ابحاث البصرة( العلميات)* 37 (15) : 53-69.
2. Hawkins D. and Abrahomse.(2007). Phototherapy a treatment modality for wound healing and pain relief, AF. Bio 10:99-109.
3. Al-Magsosy,R.A.(2005). Design and construction of a system to study the effect of laser radiation on the absorption of antibiotics in blood", Engineering college in Al-Nahrain University, M.Sc. thesis.
4. Wilson,M.(1993). Photolysis of oral bacteria and its potential use in the treatment of caries and periodontal disease .*J.of Applied Bacteriology*;75 :299-306.
5. Reid,A.B. and Strance,M.F.(1991). Healing of infected wound following iodine scribe or $Co_2$ laser treatment. *Laser-Surge-Med J*; 11:475-480.
6. Herascu,N., Velciu,B., Calin,M., Savastru,D. and Yalianu,G.(2005). Low Level Laser Therapy LLLT Efficacy in Post-Operation Wounds. *Photo med. Laser Surg*.,23(1):70-73.
7. Walsh L.J.(1997). Soft tissue applications, *Australian Dental Journal*, 42(4):247-254.
8. Husein,A.S.(2010). The Influence of Helium-Neon Laser on Methicillin–Resistant *Staphylococcus aureus* using Photo sensitizer(TBO).*Basic education college journal*,66:41-52.
9. Haddadin,A.S; Fappiano,S.A. and Lipselt,P.A.(2002). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the intensive care unit. *Postgraduate medical Journal* .78 : 385-392.
10. Alexander, K.S. (2001). Microbiology: A photographic atlas for the laboratory. Benjamin Cummings, Mexico City. U.S.A.
11. Atlas,M.R.(2005). Handbook of Media for Environmental Microbiology .2nd ed. Talor and Francis publisher. New York. U.S.A.
12. Alfred,E.B.(2005). Bensons Microbiological Applications in laboratory manual in general microbiology. 9th . ed. McGrraw- Hill. Companies. U.S.A.

13. Tiphlova,O. and T.Karu.(1995). Action of low intensity laser radiation on Escherichia coli PhD thesis laser technology center of the U.S.S.R. academic of science .Moscow. p.p. 1-25.
14. Al-Dulaymi, M.F.(2005). Study the effect of He-Ne on some virulence factors of Staphy*lococcus aureus* and *Escherichia coli*. Thesis. Institute of laser for postgraduate studies. Baghdad University.
15. Pereira,P.R., J.B.Depaula, J.Cielinski, M.Pilonetto and L.C.Bahten.(2014). Effect of low intensity laser in vitro bacterial culture and in vivo infected wounds. *Rev. col. Bras.Cir*. 41(1):49-55.
16. Karu,T.(1999). Primary and secondary mechanism of action of visible to near-IR radiation cells. In: *Journal Photochemical amd Photobiology*.; 49: 1-17.
17. Costa A.F and J.C.Assis.(2012). In vitro assessment of the bactericidal effect of low power arsenium-gallium (AsGa) laser treatment. *An Bras Dermatol*;7(4):654-656.
18. Aimbire,F.R., M.T.Albertini, H.C.Pacheco, P.S.Castro-Faria-Neto, V.V.Leonardo, R.A.Iversen, Lopes-Martins and J.M.Bjordal .(2006). Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF alpha levels in acute inflammation. *Photo med Laser Surg.*;24(1):33-7.
19. Abraham,W.R.(2005). Controlling Gram-negative pathogenic bacteria by interfering with their biofilm formation. *Drug Des Rev Online* 2:13–33.
20. Branda,S.S., A.Vik., L.Friedman and R.Kolter . 2005. Biofilms: the matrix revisited, *Trends in Microbiology*, 13(1). 20–26.
21. Rodrigo,A.C., L.P.Maia, J.P.Santos, A.R.Mesquita, T.G.Santos, A.Braoios. and R.P.Prado. (2015).Analysis of low level laser therapy in vitro cultures of bacteria and fungi *MTP& Rehab Journal* , 13(304): 1-6
22. Ali,A.M.(2015). The Effect of 650 nm Diode Laser on Growth Curve of Gram-negative Bacteria and Their Phagocytes killing Assay by PMN Cells. *Iraqi Journal of Science.* 56(3B): 2264-2274.

23. Ali,C.I.(1999). The effect of laser ,photochemical agents and thermal stress on some virulence factor of *Staphylococcus aureus* isolated from wounds. University of Tikrit. Thesis.

24. محمد، سارية. نهية حسين وبثينة عبد الحمزة. 2012.تأثير المضادات الحيوية مع أشعة الليزر في نمو نوعين من البكتريا المرضية. *مجلة الهندسة والتكنلوجيا* .30(7):146-156.

25. Whitfield W., Amor P., and Köplin R.(1997). Modulation of the surface architecture of Gram-negative bacteria by the action of surface polymer: lipid A-core ligase and by determinants of polymer chain length. *Molecular Microbiol*. 23(4). 629-638.

26. Janeway C. A., and Medzhitov R.(2002). Innate immune recognition. *Annu. Rev. of Immunol*. 20 (55). 197-216.

27. National Committee for Clinical Laboratory Standards.(2000). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically. 7th ed. M7-A5.

28. Ismail,M.C., S.Waleed, F.Jabbar and K.Ibrahim.(2012). Effect of Diode Laser (805) nm on alpha-toxin production and antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus*. *Iraqi Journal of Science*. 53( 2):755-759.

29. Rassam,Y.Z.(2010). The effect of laser light on virulence factors and antibiotic susceptibility of locally isolated *pseudomonas aeruginosa. J. Appl. Sci. Res.*, 6 (8) 1298-1302.

30. Al-Azawi,R.N.(2012). Physiological and Genetic study of X-ray effect on Streptococcus spp. Isolated from patients and X-ray exposed technicians. M.Sc.thesis, College of Science. University of Al-Nahrain.

31. AL-Derajy,S.Z.(2009).Photosensitization of Oxacillin resistant and non-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from wounds using diode laser and indocyanine green. M.Sc. Thesis. Inst. Laser Postg. University of Baghdad.

32. Malik,Z.V., J.Hanania and Y.Nitzan.(1990). New trends in photobiology, Bactericidal effects of photoactivated porphyrins-An alternative approach to antimicrobial drugs. *Journal of photo chemistry and photobiology*; 5:281-293.

33. Wilson,M.(1993). Photolysis of oral bacteria and its potential use in the treatment of caries and periodontal disease. *Journal of Applied Bacteriology* ; 75:299-306.

34. Baxter D.(2003). Laserterapia de baixa intensidade. In: Kitchen S, editora. Eletroterapia: prática baseada em evidências. 11th ed. São Paulo: Manole; 171-190.
35. Christiansen,C.and N.A.Desimone.(1999). Bactericidal Effect of 0.95-mW Helium Neon and 5-mW Indium-Galium-Aluminum-Phosphate Laser Irradiation at Exposure Times of 30, 60, and 120 Seconds on Photosensitized *Staphylococus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* In Vitro. *Physical Therapy*.; 79:839-846.
36. Komerik, N.and M.Wilson.(2002). Factors influencing the susceptibility of Gram-negative bacteria to toluidin blue o- mediated lethal photosensitization. *Journal of Applied microbiology* 92:618-623.
37. Kujawa,J., I.B.Zavodnik, A.Lapshina, M.Labieniec and M.Bryszewska.(2004). Cell Survival, DNA, and protein damage under low-intensity near-infrared (810 nm) laser irradiation. *Photo medicine and laser Surgery*, 22(6): 504-508.
38. Karu,T.(1993). Primary and Secondary Mechanisms of Action of Monochromatic Visible and IR Radiation on Cell. pp:99-108.
39. Franklin,M.J. and D.E.Ohman.(2002). Mutant analysis and cellular localization of AlgI and AlgF proteins required for oacetylation of alginate *Pseudomonas aeruginosa. J.of Bacteriology*; 184(11):3000-3007.
40. Spoering,A.L. and K.Lewis.(2001). Biofilms and plank tonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by anti microbiology. *J.of Bacteriology*.; 183(23): 6746-6751.
41. Hoiby,N., H.K.Johansen, C.Moser, Z.Song, O.Ciofu and A.Kharazmi.(2001). *Pseudomonas aeruginosa* and the in vitro and in vivo biofilm mode of growth .*Microbes and Infection*;3:23-35.
42. Deziel,E., Y.Comeau and R.Villemur.(2001).Initiation of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* 57RP correlates with emergence of hyperpiliated and highly adherent phenotypic variants deficient in swimming, swarming and twitching motilities. *J.of Bacteriology*;183(4) :1195-1204.