



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية العلوم

التحري عن المسببات البكتيرية لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن وقدرتها
على إنتاج دقائق الفضة النانوية والكشف جزيئياً عن جين *mrk A*

أطروحة مقدمة إلى

مجلس كلية العلوم في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات نيل شهادة

دكتوراه فلسفة في اختصاص

علوم الحياة / علم الأحياء المجهريّة

من قبل

إيناس عبد المنعم حسين محمد الليلة

بإشراف

الأستاذ الدكتورة باسمّة احمد عبد الله الياس

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقُلِ الْحَمْدُ لِلَّهِ سُبُّرِكُمْ أَبَانُهُ فَتَعْرِفُونَهَا ۚ وَمَا

رَبُّكُمْ بِغَافِلٍ عَمَّا تَعْمَلُونَ

صَلَّى اللَّهُ الْعَظِيمِ

سُورَةُ النَّمْلِ الْآيَةُ ٩٣

إقرار المشرف

اشهد أن إعداد هذه الأطروحة قد جرى تحت إشرافي في جامعة الموصل، وهي جزء من متطلبات شهادة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة / علم الأحياء المجهرية.

التوقيع:

المشرف: د.باسمة احمد عبدالله

المرتبة العلمية: أستاذ

التاريخ:

إقرار المقوم اللغوي

اشهد بان هذه الأطروحة الموسومة " التحري عن المسببات البكتيرية لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن وقدرتها على إنتاج دقائق الفضة النانوية والكشف جزيئيا عن جين *mrk A* " تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيريته وبذلك أصبحت الأطروحة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم : د. يونس طركي سلوم

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

التاريخ:

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءا على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي، أرشح هذه الأطروحة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم :

المرتبة العلمية:

التاريخ:

إقرار رئيس القسم

بناءا على التوصيات المقدمة من قبل رئيس لجنة الدراسات العليا ، أرشح هذه الأطروحة لمناقشة.

التوقيع:

الاسم :د.نديم احمد رمضان

المرتبة العلمية: أستاذ

التاريخ:

قرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة التقويم والمناقشة قد اطلعنا على هذه الأطروحة وناقشنا الطالبة **إيناس عبدالمنعم حسين اليلة** في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 22 / 8 / 2017 وإنها جديرة لنيل شهادة الدكتوراه فلسفة في اختصاص علوم الحياة / الأحياء المجهرية.

أ.د. رعد عبدالغني السنجري
عضو

أ.د. أميرة محمود محمد
رئيس اللجنة

أ.م.د. محمد نظير محمد معروف
عضو

أ.م.د. سوسن محمد عبدالله
عضو

أ.د. باسمة احمد عبدالله
عضو (المشرف)

أ.م.د. هيام عادل ابراهيم الطائي
عضو

قرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية العلوم بجلسته () المنعقدة في / / 2017
وقرر التوصية بمنحها شهادة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة / الأحياء المجهرية.

عميد كلية العلوم

مقرر مجلس الكلية

أ.د. أنور مصطفى عزت الفيضي

التاريخ / / 2017

التاريخ / / 2017

شكر وتقدير

الحمد لله ذي المن والفضل والإحسان. والصلاة والسلام على نبينا محمد المبعوث للإنس والجان وعلى آله الأصفياء وصحابته، ومن تبعهم بإحسان إلى يوم الدين، فله وحده الشكر أولاً وأخيراً إذ وفقني لإعداد هذه الأطروحة التي أرى لزوماً علي أن أشيد بعدها بالجهود العديدة التي أسهمت بإخراجها بالمستوى الذي ظهرت فيه.

الشكر والعرفان للأستاذ الدكتور باسمة احمد عبد الله المشرفة على الأطروحة لتوجيهاتها القيمة والسديدة ولعطائها الدائم بكل ما تملكه من روح الخير والتوجيه. والشكر موصول للأستاذ الدكتور حسين إسماعيل آرتين رئيس قسم علوم الحياة رحمه الله والدكتور محمود عبد الجبار لتقديم التسهيلات لي وتذليل كل الصعوبات التي واجهتني، كما أشكر جهود الدكتور علي عبد المطلب المشرف الميداني والدكتور باسل محمد نذير والدكتور هيثم النوري لتعاونهم معي في جمع العينات .

من الوفاء أن أشكر الحاضرة الغائبة الأستاذ الدكتورة هناء سعيد الصالح رحمة الله عليها إذ كان الفضل لها إلى ما وصلت إليه الآن، كما أقدم بالشكر الجزيل للدكتورة هناء خليل إسماعيل والدكتورة إسراء غانم السماك والدكتورة هيام الطائي والدكتور أوس إبراهيم والأستاذ أنمار احمد الطائي والدكتور أويس موفق لتعاونهم الجدي والمستمر معي ورعايتهم لي وكذلك الست زوفارت والدكتورة فدوة عودة (الجامعة الاردنية / كلية العلوم) لم يد المساعدة لي. ولا اعرف كيف أشكر عمي العزيز الأستاذ الدكتور محمد طيب الليلة رحمه الله لما قدمه لي وعمتي وأمي الثانية نوال الليلة لما قدمته من تضحيات وتفاني من اجل أن أكمل دراستي وكل الشكر والتقدير لصديقتي أحلام حسين صالح ومرا أسامة وزميلاتي وزملائي في الدراسة . بعد كل هذا وذاك . فان الذي كان وراء كل جهدي واندفاعي ومواصلي البحث والدراسة والدي الكريم ووالدتي الحبيبة وزوجي الغالي وابنتي بسمة ويمنى وأختاي أسيل ومروة اللتان كان لدعائهم ولتشجيعهم لي كل الفضل بمواصلة البحث والدراسة لتحقيق المستوى العلمي الذي انشده . وفق الله الجميع لما فيه الخير والعطاء ومنه وحده التوفيق انه نعم المولى ونعم النصير .

الباحثة

الخلاصة

جُمعت (35) عينة من حالات التهاب الجيوب الانفية المزمن والخاضعين لعملية التنظير الأنفي خلال الفترة من آذار 2013 ولغاية آذار 2014 من مستشفيات الجمهوري، الربيع الأهلي و الزهراوي الأهلي في مدينة الموصل. شخصت العزلات اعتماداً على الاختبارات الكيموحيوية بالإضافة إلى اختبارات API Staph ، RapID™ ONE System و APIE20.

كانت أعلى نسبة للنوع *Escherichia coli* في الإناث وبلغت (15%) بينما كانت أعلى نسبة في الذكور للنوع *Klebsiella pneumoniae* وبلغت (13.3%) كما عزلت أيضاً الأنواع *Serratia marcescens* ، *Moraxella spp.* ، *Citrobacter freundii* ، *Staphylococcus capitis* ، *Staph. saprophyticus* ، *Staph. lugdunensis* و *Staph. sciuri* بنسبة (6.7%) في الذكور أما في الإناث فقد عزلت الأنواع :

Enterobacter ، *Enterobacter aerogenes* ، *Acinetobacter lwoffii* ، *Staph. epidermidis* ، *Serratia marcescens* ، *Proteus mirabilis* ، *Cloacae* ، *Staph. xylosum* ، *Staph. warneri* ، *Staph. hominis* بنسبة (5%).

أبدت جميع الأنواع الجرثومية المعزولة حساسية للمضادين Norfloxacin (NOR₁₀) و Ciprofloxacin (CIP₁₀) يليهما المضادان Gentamicin و Imipenem وأثرت المضادات Cloxacillin (CX₁₀) ، Cephalothin (KF₃₀) ، Cefotaxime (CTX₁₀) ، Cefixim (CFM₅) و Cefatazidime (CAZ₁₀) بنسب مختلفة بينما كانت جميع العزلات مقاومة للمضادات Amoxicillin/Clavulanic acid (AMC₃₀) ، Ampicillin (AM₂₅) ، Ampicillin/ Cloxacillin (APX₃₀) ، Carpenicillin (PY₂₅) ، Amoxicillin (AX₂₅) ، Erythromycin (E₁₅) و Meropenem (MEM₁₀) ، Penicillin (10U).

تم قياس نسبة الكلوبولين المناعي الكلي IgE إذ بلغت في المرضى الذين كانت نسبة الكلوبولين المناعي الكلي IgE لديهم مرتفعة (46.7%) و (45%) في الذكور والإناث على التوالي، كما تم التحري عن الغشاء الحيوي والجراثيم في الخزع النسيجية المأخوذة من الزوائد الانفية للمرضى قيد الدراسة إذ كانت نسبة وجود الغشاء الحيوي والجراثيم (17.14%) في العينات جميعاً.

تم التحري عن قدرة الأنواع المعزولة لبناء دقائق الفضة النانوية إذ استطاع النوعان *E. coli* و *Prot. mirabilis* بناء هذه الدقائق والتي شخّصت باستخدام طيف الأشعة تحت الحمراء وجهاز محلل زيتا Zeta analyzer إذ أظهرت جرثومة *E. coli* القدرة على تكوين نوعين من الدقائق النانوية الأولى بحجم (0.006) نانوميتر والأخرى حوالي (1) نانوميتر في محلول نترات الفضة بتركيز (5) مولار بينما كونت نوع واحد بحجم اقل من (1) نانوميتر في محلول نترات الفضة بتركيز (3) مولار، استطاع النوع *Prot. mirabilis* تكوين ثلاثة أنواع من الدقائق النانوية الأولى حجمها اقل من (0.002) نانوميتر والثانية حجمها (0.1) نانوميتر أما الثالثة فكان حجمها (1) نانوميتر في محلول نترات الفضة بتركيز (5) مولار وكونت نوعاً واحداً بحجم (0.1) نانوميتر في محلول نترات الفضة بتركيز (3) مولار. كذلك اختبرت الفعالية التثبيطية للمحلول المتكون من قبل الجرثومتين على باقي الجراثيم المعزولة إذ لوحظ أن المحاليل تثبّت نمو الجراثيم الآتية: *Citro. freundii*, *E.coli*, *Prot. mirabilis*, *Staph. epidermidis*, *Staph.hominis*, *Staph.lugdunensis*, *Staph.warneri*

أما النوع *Enter.cloaceae* تم تثبيط نموه من قبل المحاليل ماعدا المحلول (3M-7) ، والأنواع (*Kleb.pneumoniae*, *Moraxella spp.*, *Staph.xylosus*) أبدت حساسية متوسطة للمحاليل المختبرة وقاومت الأنواع (*Acineto.lowffii*, *Enter.aerogenes*, *Serr.marcsense*, *Staph.capitis*, *Staph.saprophyticus*, *Staph.,sciuri*) المختبرة .

اجري فحص تفاعل البلمرة المتسلسل باستخدام عزل البلازميد من الأنواع المعزولة واجري فحص سلسلة تفاعلات البلمرة باستخدام البادئات الخاصة للتحري عن جين *mrkA* إذ وجد الجين في (4) أنواع وهي : *Moraxella spp.*, *Entero. aerogenes*, *E. coli*, *Citro. freundii* .

قورنت نتائج تتابعات القواعد النروجينية للجين *mrkA* ضمن المركز الدولي لمعلومات التقنيات الحياتية (NCBI) National Center Biotechnology Information وباستخدام برنامج (BLAST) Basic Local Alignment Search Tool حيث وجد تغاير ظهر بشكل طفرات من نوع استبدال مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني التريتوفان إلى الليوسين كما حدثت طفرة انتقال وتبدل الحامض الاميني الاسبارتيت إلى الاسبارجين .

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع
I	قائمة المحتويات
VI	قائمة الجداول
IX	قائمة الصور
XII	قائمة الأشكال والمخططات
XIV	قائمة المختصرات
XV	قائمة مختصرات الأحماض الأمينية
الفصل الأول : المقدمة	
1	المقدمة 1
الفصل الثاني : استعراض المراجع	
4	استعراض المراجع. 2
4	الجيوب الأنفية تعريفها , تكوينها ووظائفها. 1:2
6	التهاب الجيوب الأنفية المزمن. 2:2
6	انتشاره. 1:2:2
6	الامراضية. 2:2:2
7	عوامل الخطورة. 3:2:2
8	أنواع التهاب الجيوب الأنفية المزمن. 3:2
9	جراحة الجيوب الأنفية باستخدام الناظور. 4:2
12	دور الجراثيم في التهاب الجيوب الأنفية المزمن. 5:2
13	الحساسية والربو ودورهما في التهاب الجيوب الأنفية المزمن. 6:2
15	دور الغشاء الحيوي في التهاب الجيوب الأنفية المزمن. 7:2
16	مراحل تكوين الغشاء الحيوي. 1:7:2
17	مميزات الخلايا الجرثومية في الغشاء الحيوي. 2:7:2
17	فوائد الغشاء الحيوي . 3:7:2
18	جين <i>mrkA</i> احد الجينات المسؤولة عن تكوين الغشاء الحيوي. 8:2

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	
20	تصنيع الدقائق النانوية من قبل جرثومتي <i>E.coli</i> و <i>Proteus mirabilis</i> .	9:2
21	أهمية التقنية النانوية.	1:9:2
22	الكيمياء الخضراء لإنتاج الدقائق النانوية.	2:9:2
26	البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية.	3:9:2
الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل		
28	المواد وطرائق العمل.	3
28	المواد.	1:3
28	العينات.	1:1:3
28	عينات الدم.	1:1:1:3
29	عينات الخزع النسيجية.	2:1:1:3
29	المرضى.	2:1:3
29	الأوساط ,المواد الكيماوية والمعدات.	3:1:3
33	البادئ.	4:1:3
33	طرائق العمل.	2:3
33	الزراع على الأوساط الأولية.	1:2:3
33	تشخيص العزلات.	2:2:3
34	الفحوصات الكيموحيوية.	3:2:3
34	تأكيد العزلات باستخدام RapID™ ONE System.	4:2:3
34	تحضير المعلق الجرثومي.	1:4:2:3
34	تلقيح حجرات مسطرة الـ RapID™.	2:4:2:3
35	تسجيل نقاط حجرات النظام.	3:4:2:3
36	نظام (API Staph).	5:2:3
36	التحري عن الحساسية للمضادات الحيوية.	6:2:3
37	قياس تركيز الكلوبيولين المناعي نوع E في مصول المرضى قيد الدراسة.	7:2:3
37	طريقة العمل.	1:7:2:3
38	حساب تركيز الكلوبيولين المناعي نوع E ورسم المنحنى القياسي.	2:7:2:3

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	
40	تحضير مقاطع نسيجية من الزوائد الأنفية وصبغها بصبغتي الهيماتوكسلين أيوسين و كرام النسيج.	8:2:3
40	مراحل تحضير النسيج لصبغه بصبغة هيماتوكسلين - أيوسين للتحري عن الغشاء الحيوي.	1:8:2:3
41	مراحل تحضير النسيج لصبغه بصبغة كرام النسيج.	2:8:2:3
42	البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية بوساطة النوعين <i>Escherichia coli</i> و <i>Prot. mirabilis</i> .	9:2:3
43	التحري عن دقائق الفضة النانوية بوساطة تحليل جهد زيتا وحجم الدقائق النانوية المتكونة من قبل جرثومتي <i>Escherichia coli</i> و <i>Prot. mirabilis</i> .	10:2:3
43	عزل البلازميد.	11:2:3
44	تحضير مزيج محلول تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) للكشف عن جين <i>mrkA</i> .	12:2:3
45	الكشف عن جين (<i>mrkA gene</i>) من عزلات البكتريا السالبة لصبغة كرام.	13:2:3
45	الترحيل الكهربائي باستخدام جل الاكاروز.	1:13:2:3
46	تحديد تسلسل القواعد النتروجينية للجين (<i>mrkA gene</i>) في عزلات البكتريا التي ظهر فيها هذا الجين.	2:13:2:3
46	التحليل الاحصائي.	3:3
الفصل الرابع : النتائج والمناقشة		
47	النتائج والمناقشة.	4
47	العزل.	1:4
55	اختبار الحساسية للمضادات الحيوية المختلفة.	2:4
61	اختبار قياس الكلوبيولين المناعي IgE في مصل المرضى قيد الدراسة ونسبة الحساسية (الشري، الربو والعطاس).	3:4
66	التحري عن الغشاء الحيوي والجراثيم في الخزر النسيجية المأخوذة من الزوائد الأنفية للمرضى قيد الدراسة.	4:4
66	استخدام صبغة الهيماتوكسلين أيوسين في التحري عن الغشاء الحيوي.	1:4:4

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	
72	التحري عن وجود الجراثيم في نسيج الزوائد الأنفية باستخدام صبغة كرام النسيج.	2:4:4
74	عمليات التنظير الأنفي وعلاقة العمر والجنس بالإصابة.	5:4
74	عمليات التنظير الأنفي.	1:5:4
74	تأثير الجنس والعمر والوزن على المرضى قيد الدراسة.	2:5:4
77	السكن والمهنة والجنس.	3:5:4
79	مدة التهاب الجيوب الأنفية.	4:5:4
81	بعض الأعراض المصاحبة لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن.	5:5:4
81	ألم الرأس، السعال والإفرازات الأنفية.	1:5:5:4
85	وجود الحمى، التهاب الأذن والتهاب البلعوم.	2:5:5:4
94	البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية وبعض القياسات المهمة الأخرى.	6:4
94	البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية بوساطة جرثومتي اشيريشيا القولون و المتقلبة .	1:6:4
95	استخدام طيف الأشعة تحت الحمراء لتشخيص تكوين دقائق الفضة النانوية من قبل جرثومتي اشيريشيا القولون والمتقلبة.	2:6:4
103	استخدام جهاز محلل زيتا لتحديد حجم دقائق الفضة النانوية المصنعة وجهد زيتا لها.	3:6:4
106	اختبار الفعالية التثبيطية للمحلول الحاوي على دقائق الفضة النانوية المتكونة من قبل جرثومتي اشيريشيا القولون والمتقلبة على الجراثيم المعزولة قيد الدراسة.	4:6:4
108	الكشف عن جين (<i>mrkA</i>) من عزلات الجراثيم السالبة لصبغة كرام.	7:4
108	استخلاص البلازميد والتحري عن وجود الجين (<i>mrkA</i>).	1:7:4

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	
109	تحديد تتابع القواعد النتروجينية لجين <i>mrkA</i> المعزول من جرثومتي <i>Citrobacter freundii</i> و <i>Enterobacter aerogenes</i> .	2:7:4
الاستنتاجات والتوصيات		
117	الاستنتاجات والتوصيات.	
117	الاستنتاجات.	
118	التوصيات.	
المصادر		
119	المصادر.	
الملاحق		
	الملاحق.	

قائمة الجداول

رقم الجدول	الموضوع	الصفحة
المواد وطرائق العمل		
(1-3)	الأوساط والمواد المستخدمة في الدراسة الحالية.	30
(2-3)	الاجهزة التي استخدمت في الدراسة الحالية.	31
(3-3)	العدد التي استخدمت في الدراسة الحالية .	31
(4-3)	المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة الحالية.	32
(5-3)	تسلسل البادئ المستخدم للتحري عن جين <i>mrkA</i> .	33
(8-3)	حساب التركيز بدلالة الامتصاصية.	39
(9-3)	برنامج تفاعل تضخيم البلازميد.	45
النتائج والمناقشة		
(1-4)	النسب المئوية للعزل في كلا الجنسين قيد الدراسة.	47
(2-4)	النسب المئوية للأنواع الجرثومية المعزولة في كلا الجنسين قيد الدراسة.	48
(3-4)	حساسية الجراثيم المعزولة للمضادات الحيوية المختلفة .	58
(4-4)	نسبة الحساسية وأنواعها في المرضى الحساسية من كلا الجنسين قيد الدراسة.	64
(5-4)	النسبة المئوية لوجود العطاس في مرضى التهاب الجيوب الأنفية الذين لا يعانون من الحساسية قيد الدراسة.	65
(6-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود الحساسية.	65
(7-4)	النسب المئوية لأعداد المرضى ضمن الفئات العمرية (سنة) قيد الدراسة.	75
(8-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى والعمر .	76
(9-4)	النسبة المئوية لأعداد المرضى لكلا الجنسين حسب الوزن.	76
(10-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى والوزن .	77
(11-4)	النسب المئوية لأعداد المرضى من كلا الجنسين حسب السكن والمهنة.	77
(12-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى والسكن.	78

قائمة الجداول

رقم الجدول	الموضوع	الصفحة
(13-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى والمهنة.	79
(14-4)	مدة التهاب الجيوب الأنفية المزمن (سنة) في المرضى قيد الدراسة.	80
(15-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ومدة الالتهاب.	80
(16-4)	نسبة ألم الرأس، السعال والإفرازات الأنفية في المرضى قيد الدراسة.	82
(17-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى والم الرأس.	82
(18-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ونوع الم الرأس .	82
(19-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى والسعال .	83
(20-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ونوع السعال .	83
(21-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود الإفرازات الانفية .	84
(22-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ونوع الإفرازات الانفية .	84
(23-4)	وجود الحمى ،التهاب أذن،بلعوم وعملية سابقة في المرضى قيد الدراسة.	86
(24-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود الحمى.	87
(25-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى والتهاب الاذن .	87
(26-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى والتهاب البلعوم .	88

قائمة الجداول

رقم الجدول	الموضوع	الصفحة
(27-4)	النسب المئوية لأعراض انسداد الأنف ، انحراف الأنف ووجود زوائد أنفية في المرضى قيد الدراسة.	89
(28-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى وانسداد الأنف.	89
(29-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى وانحراف الأنف .	91
(30-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود الزوائد الأنفية .	91
(31-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى وفقدان الشم.	93
(32-4)	التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود رائحة فم كريهة.	93
(37-4)	أقطار الفعالية التثبيطية (مم) لمحاليل الفضة النانوية المصنعة ضد الجراثيم المعزولة قيد الدراسة .	107
(38-4)	الطفرات الحاصلة في جين mrkA في جرثومة <i>Enterobacter aerogenes</i> .	111
(39-4)	الطفرات الحاصلة في جين mrkA في جرثومة <i>Citrobacter freundii</i> .	114
الملاحق		
(1-2)	وبائية التهاب الجيوب الأنفية السنوية في دول العالم المختلفة .	
(6-3)	المرشد الملون لاختبار نظام RapID™ ONE.	
(7-3)	تفسير نتائج اختبار لاختبار نظام RapID™ ONE.	
(33-4)	قياسات محلول النانوي لجرثومة <i>E.coli</i> في محلول 3 مولار.	
(34-4)	قياسات محلول النانوي لجرثومة <i>E.coli</i> في محلول 5 مولار.	
(35-4)	قياسات محلول النانوي لجرثومة <i>Proteus mirabilis</i> في محلول 3 مولار.	
(36-4)	قياسات محلول النانوي لجرثومة <i>Proteus mirabilis</i> في محلول 5 مولار.	

قائمة الصور

رقم الصورة	الموضوع	الصفحة
(1-2)	موقع تاجي يوضح الجيوب الأنفية.	4
(2-2)	موقع الجيوب الأنفية.	5
(3-2)	تقنية جراحة الناظور الأنفي.	10
(4-2)	وحدة الناظور الأنفي في صالة عمليات مستشفى الجمهوري 2013/12/1.	11
(5-2)	دقائق الفضة النانوية داخل الخلية الجرثومية.	24
(6-2)	دقائق الرصاص النانوية خارج الخلية الجرثومية.	25
(1-4)	الاختبارات الكيموحيوية باستخدام نظام RapID™ للجراثيم السالبة لصبغة كرام واختبار الاوكسيدز. أ- <i>Enterobacter cloacae</i> ب- <i>Enterobacter</i> <i>aerogenes</i> ج- <i>E. coli</i> د- <i>Citrobacter freundii</i> و- ط- <i>Serratia marcescens</i> ز- <i>Kleb. pneumoniae</i> ح- <i>Proteus mirabilis</i>	53
(2-4)	الاختبارات الكيموحيوية باستخدام نظام API E20 للجراثيم السالبة لصبغة كرام وموجبة لاختبار الاوكسيدز أ- <i>Moraxella spp.</i> ب- <i>Acinetobacter lwoffii</i> .	53
(3-4)	الاختبارات الكيموحيوية باستخدام نظام API staph لجراثيم المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام أ- <i>Staph. lugdunensis</i> ب- <i>Staph. hominis</i> ج- <i>Staph. epidermidis</i> د- <i>Staph. saprophyticus</i> هـ- <i>Staph. xylosus</i> و- <i>Staph. sciuri</i> ز- <i>Staph. warneri</i> ح- <i>Staph. Capitis</i>	55
(4-4)	فرط التنسج للخلايا الظهارية المبطنة للغشاء المخاطي للأنف واختفاء الأهداب وارتشاح الخلايا الالتهابية في طبقة السدى باستخدام صبغة الهيماتوكسولين ايوسين بقوة تكبير 100X .	68
(5-4)	ارتشاح الخلايا الالتهابية بقوة تكبير 100X.	68
(6-4)	ارتشاح الخلايا الالتهابية حول الوعاء الدموي بقوة تكبير 100X.	68

قائمة الصور

رقم الصورة	الموضوع	الصفحة
(7-4)	توسع تجويف الوعاء الدموي واحتوائه على كريات دم حمراء وارتشاح الخلايا الالتهابية حوله بقوة تكبير 100X.	68
(8-4)	نزف شديد بين الخلايا الظهارية وتنخر ووذمة ظهرت بلون وردي بقوة تكبير 100X.	68
(9-4)	ارتشاح للخلايا الالتهابية ظهرت بشكل بؤري بقوة تكبير 100X.	68
(10-4)	ارتشاح الخلايا الالتهابية وتضيق الغدد الشمية بقوة تكبير 100X.	69
(11-4)	ارتشاح الخلايا الالتهابية مع توسع في تجاويف الغدد المخاطية بقوة تكبير 100X.	69
(12-4)	التوسع الشديد في تجويف الوعاء الدموي وتنخر جداره نتيجة لترسب المادة الحامضية بقوة تكبير 100X .	69
(13-4)	التوسع الشديد للغدد الشمية المخاطية وتحطم جدارها واتحادها مع بعضها وتنخر الخلايا الطلائية المبطن لها بقوة تكبير 100X .	69
(14-4)	توسف وانسلاخ في الخلايا الظهارية ووجود بقايا من الغشاء الحيوي بقوة تكبير 100X .	69
(15-4)	المادة متعددة السكريات خارج الخلية EPS للغشاء الحيوي بقوة تكبير 100X.	69
(16-4)	الغشاء الخلوي على سطح الخلايا الظهارية بقوة تكبير 100X.	70
(17-4)	الغشاء الحيوي وتجمع الجراثيم في جزء من الاهداب للخلايا الطلائية و تفجي وتنخر لها بقوة تكبير 100X.	70
(18-4)	الغشاء الحيوي مع وضوح النزف ونخر الخلايا الظهارية بقوة تكبير 100X.	70
(19-4)	تجمع الجراثيم التي أخذت اللون القاعدي على سطح الخلايا الظهارية المبطنه للأنف عينة 27. بقوة تكبير 100X.	70
(20-4)	تجمع الجراثيم التي أخذت اللون القاعدي على سطح الخلايا الظهارية المبطنه للأنف للعينة 21 بقوة تكبير 100X.	70

قائمة الصور

الصفحة	الموضوع	رقم الصورة
70	الغشاء الحيوي المتكون في أهداب الخلايا الظهارية مع تنكس ونخر فيها بقوة تكبير 100X .	(21-4)
73	المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الأنفية بقوة تكبير 100X .	(22-4)
73	المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الأنفية بقوة تكبير 100X .	(23-4)
73	المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الأنفية للعينة (18) بقوة تكبير 100X .	(24-4)
73	المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الأنفية للعينة 21 بقوة تكبير 100X .	(25-4)
73	المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الأنفية للعينة 27 بقوة تكبير 100X .	(26-4)
73	العصيات المكورة السالبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الأنفية للعينة 22 بقوة تكبير 100X .	(27-4)
73	العصيات المكورة السالبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الأنفية للعينة 25 بقوة تكبير 100X .	(28-4)
95	البناء الحيوي للفضة النانوية قيد الدراسة.	(29-4)
الملاحق		
109	موقع حزم جين <i>mrkA</i> للعزلات <i>E. coli</i> ، <i>Citrobacter freundii</i> ، <i>Enterobacter aerogenes</i> و <i>Moraxella spp</i> .	(30-4)

قائمة الأشكال والمخططات

رقم الشكل	الموضوع	الصفحة
النتائج والمناقشة		
(1-4)	المنحنى القياسي لإيجاد التركيز بدلالة الامتصاصية.	61
(2-4)	نسبة IgE في المرضى المصابين بالالتهاب الجيوب الأنفية المزمن أ- النسبة في الذكور. ب- النسبة في الإناث.	62
(3-4)	تكرار إجراء جراحة النازور الأنفي للمرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن قيد الدراسة .	75
(4-4)	النسب المئوية لفقدان حاسة الشم لدى المرضى أ- في الذكور ب- في الإناث.	92
(5-4)	النسب المئوية لرائحة الفم الكريهة لدى المرضى أ- في الذكور ب- في الإناث.	92
(6-4)	طيف الأشعة تحت الحمراء محلول السيطرة 3 مولار.	97
(7-4)	طيف الأشعة تحت الحمراء محلول السيطرة 5 مولار.	98
(8-4)	طيف الأشعة تحت الحمراء للمحلول النانوي المتكون من جرثومة <i>E.coli</i> ومحلول نترات الفضة 3 مولار.	99
(9-4)	طيف الأشعة تحت الحمراء للمحلول النانوي المتكون من جرثومة <i>Proteus mirabilis</i> ومحلول نترات الفضة 3 مولار.	100
(10-4)	طيف الأشعة تحت الحمراء للمحلول النانوي المتكون من جرثومة <i>E.coli</i> ومحلول نترات الفضة 5 مولار.	101
(11-4)	طيف الأشعة تحت الحمراء للمحلول النانوي المتكون من جرثومة <i>Proteus mirabilis</i> ومحلول نترات الفضة 5 مولار.	102
(12-4)	توزيع حجم الدقائق النانوية في المحلول 3 مولار المتكونة من قبل جرثومة <i>E.coli</i> .	104

قائمة الأشكال والمخططات

الصفحة	الموضوع	رقم الشكل
104	توزيع حجم الدقائق النانوية في المحلول 5 مولار المتكونة من قبل جرثومة <i>E.coli</i> .	(13-4)
105	توزيع حجم الدقائق النانوية في المحلول 5 مولار المتكونة من قبل جرثومة <i>Proteus mirabilis</i> .	(14-4)
105	توزيع حجم الدقائق النانوية في محلول 5 مولار المتكونة من قبل جرثومة <i>Proteus mirabilis</i> .	(15-4)
110	مقارنة تتابع الاحماض الامينية لجين <i>mrkA</i> لجرثومة <i>Entero. aerogenes</i> مع عزلة قياسية ضمن برنامج NCBI.	(16-4)
110	مقارنة تتابع الاحماض الامينية لجين <i>mrkA</i> لجرثومة <i>Citro.freundii</i> مع عزلة قياسية ضمن برنامج NCBI.	(17-4)
الملاحق		
	استمارة استبيان مرضى التهاب الجيوب الانفية.	(1-3)

قائمة المختصرات

الاختصار	الاسم
<i>Acineto. lwoffii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
AFS	Allergic Fungal Sinusitis
AERD	Aspirin Exacerbated Respiratory Disease
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
CHPS	Chronic Hyperplastic Sinusitis
<i>Citro. freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
DPX	Distyrene Plasticizer Xylene
<i>Entero. aerogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Entero. cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Ent. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FTIR	Fourier Transmission Infrared Spectroscopy
FESS	Functional Endoscopy Sinus Surgery
<i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
H-E	Haemotoxylin-Eiosin
<i>Kleb. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MRSA	Methicillin Resistant Staph. aureus
<i>M. catarrhalis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
NCBI	National Center Biotechnology Information
NES	Non Eosinophilic Sinusitis
OMC	Osteo Meatal Complex
<i>Prop. acnes</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Prot. mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
SEM	Scanning Electron Microscopy
<i>Serr. marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
AgNPs	Silver Nanoparticles
<i>Staph. capitis</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Staph.epidermidis</i>	<i>Staphylococcus.epidermidis</i>
<i>Staph.hominis</i>	<i>Staphylococcus.hominis</i>
<i>Staph.lugdunensis</i>	<i>Staphylococcus.lugdunensis</i>
<i>Staph.saprophyticus</i>	<i>Staphylococcus.saprophyticus</i>

<i>Staph.warneri</i>	<i>Staphylococcus.warneri</i>
<i>Staph.xylosus</i>	<i>Staphylococcus.xylosus</i>
<i>Staph.sciuri</i>	<i>Staphylococcus.sciuri</i>
<i>Strept. pneumonia</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
TBE	Tris Borate EDTA
TMB	3,3,5,5-Tetra Methyl Benzidine

قائمة مختصرات الأحماض الامينية

الاختصار	الاسم
A	Alanine
R	Arginine
N	Asparagine
D	Aspartate
E	Glutamate
Q	Glutamine
H	Histidine
I	Isoleucine
L	Leucine
K	Lysine
F	Phenylalanine
S	Serine
T	Threonine
W	Tryptophan
Y	Tyrosine
V	Valine

المقدمة

Introduction

1:المقدمة Introduction:-

يعد التهاب الجيوب الأنفية المزمن حالة التهابية مستمرة تصيب واحداً أو أكثر من الجيوب الأنفية وبالرغم من أن التهاب الجيوب الأنفية المزمن أقل انتشاراً من الحاد إلا أن انتشاره ازداد مؤخراً لدى مختلف الفئات العمرية وبشكل أكبر لدى البالغين متوسطي الأعمار وقد يصيب الأطفال أيضاً (Juan,et al., 2017Hashemian et al.,2016;Sarber et al.,2013)

هناك عدة أنواع من التهاب الجيوب الأنفية وقد يكون مصاحباً للزوائد الأنفية أو غير مصاحباً لها ومنها:-

- التهاب الجيوب الأنفية الفطري التحسسي (Allergic Fungal Sinusitis (AFS .
 - مرض الجهاز التنفسي المتفاقم بسبب التحسس للأسبرين Aspirin Exacerbated Respiratory Disease (AERD)
 - التهاب الجيوب الأنفية غير المصاحب لخلايا الدم الحمضة Non Eosinophilic sinusitis (NES)
 - التهاب الجيوب الأنفية المصاحب لفرط التنسج Chronic Hyper Plastic Sinusitis(CHPS)
- تعد جراحة الجيوب الأنفية الوظيفية باستخدام الناظور من العمليات الجراحية المتطورة التي أحدثت ثورة كبيرة في مجال العلاج الجراحي لأمراض الجيوب الأنفية المزمنة إذ تميزت عن العمليات الجراحية بما يأتي :-

- 1- أقل تخريشاً وأذىً للتراكيب الداخلية للأنف والجيوب الأنفية .
- 2-وقت انجازها اقصر من التقنيات الأخرى وفترة شفاء المريض أسرع .
- 3-أقل إزعاجاً للمريض بعد العملية ومضاعفاتها اقل.

(Al-Mujaini et al.,2009; Chopra et al.,2006)

عُزلت أنواع عديدة من الجراثيم من حالات التهاب الجيوب الأنفية المزمن ومنها الهوائية وتتضمن *Staph.aureus* و المكورات العنقودية السالبة لإنزيم التجلط كما تلعب اللاهوائيات دوراً كبيراً فيه إذ تتراوح نسبتها في الأطفال (90-100%) ونسبة الجراثيم المعزولة من البالغين (0-25%) كما تساهم الفطريات أيضاً في حدوثه (Leung and Katial,2008) .

تلعب الحساسية دوراً مهماً في التهاب الجيوب الأنفية المزمن إذ أن أكثر من (50%) من الأشخاص المصابين بالحساسية مصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن كما إن ارتفاع الكلوبولين المناعي نوع IgE الكلي هو من عوامل الخطورة للإصابة بالتهاب الجيوب المزمن القاسي ويؤدي التحسس لعدة محسسات موسمية وغير موسمية إلى تفاقمه (Kennedy and Borish,2013).

إن للغشاء الحيوي دوراً بارزاً في أمراض الأنف والأذن والحنجرة ومنها التهاب الجيوب الأنفية المزمن المصاحب للزوائد الأنفية (Chen *et al.*,2012), أكدت الدراسات انه يساهم بصورة كبيرة في حالات التهاب الجيوب الأنفية التي لم تعالج باستخدام المضادات الحيوية حيث لوحظت الأغشية الحيوية في العينات الجراحية المأخوذة من مرضى مصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن . وجد الباحث فورمان Forman وآخرون سنة (2010) أن (90%) من مرضى التهاب الجيوب الأنفية لديهم أغشية حيوية وهذا يفسر الطبيعة الراجعة لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن وخاصة المصاحب للزوائد الأنفية وعدم استجابته للعلاج بالمضادات الحيوية (Malaty,2016; Bezerra *et al.*,2009; Sanderson *et al.*,2006).

هناك عدة ميكانيكيات تستخدمها الجراثيم الممرضة السالبة لصبغة كرام للالتصاق بالأسطح الحية وغير الحية وأحد هذه الميكانيكيات هي:

الهدب النوع الثالث Type 3 fimbriae والذي يتميز بقابليته على التلازن مع كريات الدم كريات الدم الحمراء المعاملة بحامض التانيك Tannic acid ولهذا السبب يسمى Mannose-Resistant Klebsiella-like hemagglutination(MR/K) يشفر هذا الهدب بوساطة اوبرون mrk ويتوسط عملية بدء تكوين وتجمع الغشاء الحيوي على الاسطح الحية وغير الحية (Bandeira *et al.*, 2017; Johnson *et al.*,2011; Ong *et al.*, 2010).

لاقت تقنية النانو أو ما يسمى علم الصغائر اهتماماً كبيراً وخاصة في السنوات الأخيرة وذلك لتأثيرها الكبير على العديد من المجالات العلمية مثل الطب ، الصناعات الدوائية ، الطاقة، الالكترونيات وهذا يحتاج إلى برنامج تجريبي اخضر صديق للبيئة ،نظيف ،غير سام لبناء الدقائق النانوية (Iravani,2014).

يُعتبر البناء الحيوي للدقائق النانوية احد أهم طرق الكيمياء الخضراء أي بناء مواد صديقة للبيئة دون اللجوء إلى استخدام مواد كيميائية سامة وذلك باستخدام الأحياء المجهرية ،مستخلصات النباتات ،إنزيمات إحيائية ،فيتامينات حيث هناك عدة كائنات مجهرية مثل الجراثيم ،الفطريات والخمائر والتي أطلق عليها مصانع نانوية إذ تقوم ببناء مواد نانوية كالذهب والفضة (Shaik *et al.*, 2017;Logeswari *et al.*,2013).

لذا هدفت دراستنا إلى ما يأتي:-

- 1- تسليط الضوء على بعض البيانات المهمة عن المرضى الذين يعانون من التهاب الجيوب الانفية المزمن .
- 2- عزل وتشخيص الجراثيم الهوائية المسببة للمرض و اختبار حساسية الجراثيم المعزولة لعدد من المضادات الحيوية .
- 3- معرفة العلاقة بين الحساسية والتهاب الجيوب الانفية المزمن وذلك بتقدير الكلوبيولين المناعي الكلي IgE.
- 4- التحري عن وجود الجراثيم في نسيج الزوائد الانفية .
- 5- توضيح قدرة الأنواع المعزولة على تكوين الغشاء الحيوي.
- 6- التحري عن بعض الجينات المهمة التي تلعب دوراً في تكوين الغشاء الحيوي باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR و تحديد تتابع القواعد النتروجينية للجينات المكونة للغشاء الحيوي .
- 7- قدرة بعض الأنواع المعزولة قيد الدراسة على البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية و اختبار تأثير محلول الفضة النانوية الجاهز ومحلول الفضة المتكون من قبل الأنواع المعزولة على الأنواع الممرضة المعزولة قيد الدراسة.

2:استعراض المراجع LITERATURE REVIEW:-

1:2:الجيوب الأنفية تعريفها, تكوينها ووظائفها Nasal Sinuses Definition,

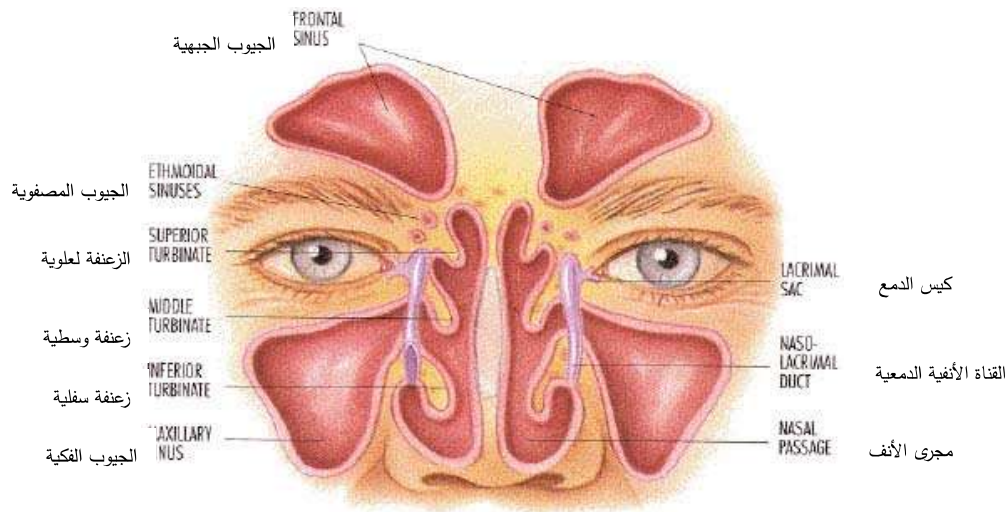
-:Formation and Functions

تعرف الجيوب الأنفية على إنها فراغات هوائية داخل عظام الوجه مبطنة بغشاء مخاطي مكون من نسيج طلائي عمودي طبقي كاذب تنتشر فيه خلايا كأسيه ويغطي بطبقة من مادة مخاطية وتحتوي الخلايا على شعيرات تراح بواسطتها الإفرازات والمادة المخاطية إلى البلعوم الأنفي.تتطور الجيوب الأنفية والزعانف من الأخدود الابتدائي على طول جانبي جدار التجويف الأنفي أثناء النمو الجنيني إذ تتطور تراكيب الجيوب الأنفية جميعها من الزعنفة الغربالية Ethmoturbinate باستثناء الزعنفة السفلية، هناك أربعة أزواج من الجيوب الأنفية ، أربعة في كل جانب من الوجه وهي :-

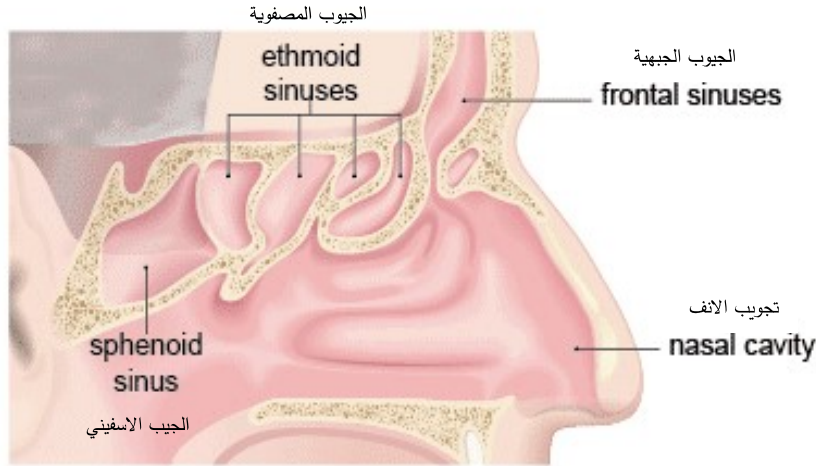
- 1- الجيوب الفكية Maxillary Sinuses .
- 2- الجيوب الجبهية Frontal Sinuses .
- 3- الجيوب الاسفينية (الوتدية) Sphenoidal Sinuses .
- 4- الجيوب المصفوية أو الغربالية Ethmoidal Sinuses .

إن لهذه الجيوب مصبات خاصة تصب فيها الإفرازات إذ تصب الجيوب الفكية والمصفوية الأمامية والجبهية في المجرى الوسطي بينما تصب المصفوية الخلفية والاسفينية في المجرى العلوي (Gleeson et al.,2008).

يولد الطفل وعنده الجيوب الفكية والمصفوية والتي تتوسع إلى أن تصل إلى العظام القحفية عند البلوغ وبذلك تتكون الجيوب الجبهية كما مبين في الصورتين (1-2) و(2-2).



الصورة(1-2) موقع تاجي يوضح الجيوب الأنفية



The location of the frontal, ethmoid and sphenoid sinuses

www.bupa.com

الصورة (2-2) موقع الجيوب الأنفية

وضعت عدة افتراضات لوظائف الجيوب الأنفية بالرغم من إن وظيفتها لم تعرف بصورة دقيقة لحد الآن منها:-

- 1- تعمل على نضوح المادة المخاطية الناتجة منها والتهوية الطبيعية حتى ولو كان النضوح ضد الجاذبية كما في الجيوب الفكية إذ تقوم ملايين الأهداب بالتنظيف و تتحرك على طول سطح الطبقة الطلانية للجيوب الأنفي والتي صممت لتحريك أي مادة مخاطية أو جسم غريب باتجاه الفتحة الطبيعية للجيوب (Ostium) والتي تقع في القسم الأعلى الداخلي من الجيوب.
- 2- تخفيف وزن الجمجمة.
- 3- تعزيز رنين الصوت.
- 4- حواجز أو عوازل حرارية.
- 5- توفر مناطق فارغة للتراكيب الحيوية من الرأس كالعيون والدماغ لتبديد القوى التي يمكن إن تتلفها كالرضوض والضربات .
- 6- تكون الجيوب الأنفية أوكسيد النتريك NO كوسيط مناعي (Immune mediator) قادرة على قتل الجراثيم , الفيروسات , الفطريات والخلايا الورمية والتي تعمل من خلال الاستنشاق كموسع للقصبات .
- 7- تعمل وتشارك بدفاعات المناعة الفطرية للمجرى الهوائي.

إن هذه الأهداب قد تتعرض للخطر إثناء التهاب الطبقة المخاطية للأنف مما ينتج عنه انخفاض حركة الأهداب وانسداد فتحة الجيب وقلة نضوح المادة المخاطية هذه جميعا تقود إلى تجمع الإفرازات في الجيب وقلة الأوكسجين بالإضافة إلى قلة عدد الأهداب وانخفاض إنتاج أوكسيد النتريك (Shusterman,2015;Payne et al.,2011) .

2:2 التهاب الجيوب الأنفية المزمن Chronic Rhinusinusitis

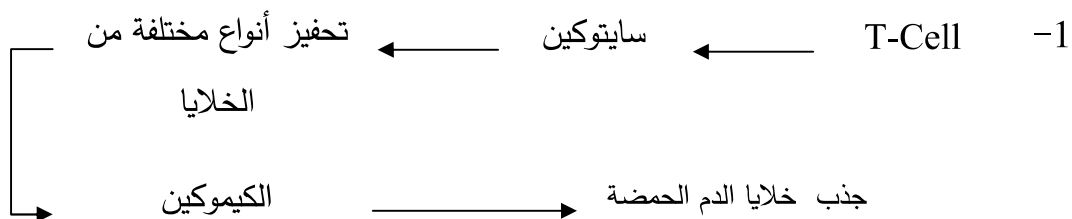
يعرف بأنه التهاب للجيوب الأنفية الذي يدوم أكثر من (12) أسبوعا ويشخص بواسطة أعراض تحسس الأنف , سيلان الأنف الأمامي والخلفي وتكون إفرازات ملونه , انسداد الأنف مع وجود الم وضغط في الجيوب الأنفية وضعف في حاسة الشم وقد يؤدي إلى مضاعفات منها إصابة العصب البصري ويتم تأكيد التشخيص بالناظور الأنفي Nasal Endoscopy أو الفحص بالمجهر الماسح CT-Scan (Chaiyasate et al., 2015; Bachert et al.,2014;Payne et al.,2011).

1:2:2 انتشاره Prevalence

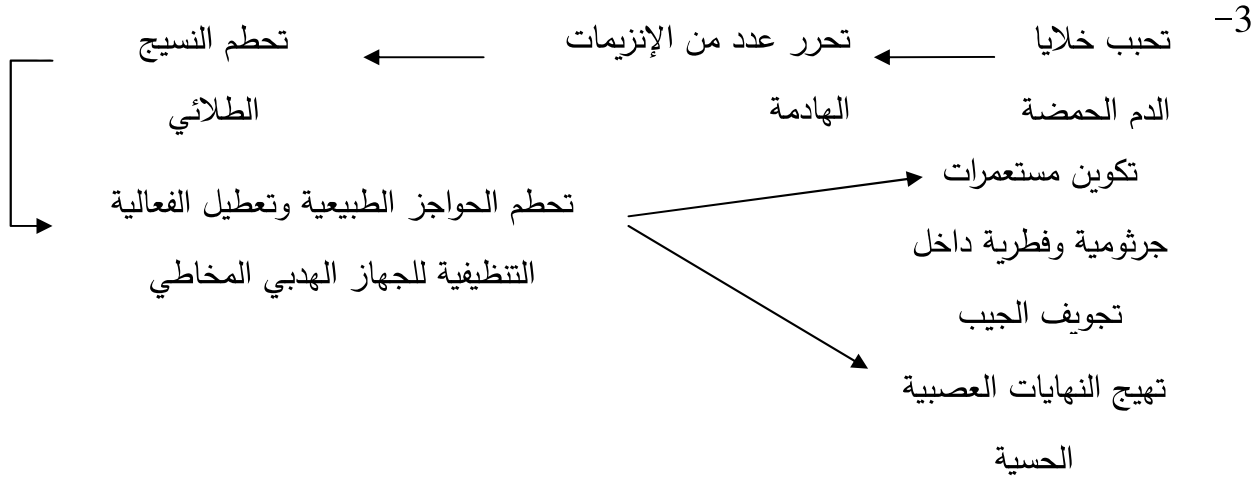
يعد التهاب الجيوب الأنفية المزمن احد الأمراض المزمنة الشائعة وتكون نسبة تفشيته أحيانا أعلى من الحالات المزمنة الأخرى كالربو والحساسية . يصيب التهاب الجيوب الأنفية المزمن حوالي (14 - 16 %) من سكان الولايات المتحدة لدى الفئة العمرية من (20 - 59) سنة وأكثر شيوعا في الإناث ويكون أحيانا مصحوبا بتكون الزوائد الأنفية (Nasal Polyps) في حوالي (19 - 36 %) من المرضى (Hong et al.,2015;Rosenfeld et al.,2007) . أشار الباحثان Zhang و Bachert (2012) إلى أن نسبة انتشار التهاب الجيوب الأنفية في أوروبا (10%) وأشار الباحث Jreemich (2015) أن التهاب الجيوب الأنفية المزمن يصيب ما لا يقل عن مليون عراقي ويبين الجدول (1) في الملحق انتشار التهاب الجيوب الأنفية المزمن في دول العالم .

2:2:2 الأمراض Pathogenicity :-

تحدث التغيرات الآتية في الجسم عند التهاب الجيوب الأنفية المزمن :-



2- ارتفاع مستويات الانترلوكينات IL-4 و IL-5 في أنسجة الأنف والجيوب الأنفية مما يؤدي إلى ارتفاع وزيادة نسبة كريات الدم الحمضة .



(Desrosiers et al.,2011)

3:2:2 عوامل الخطورة Risk Factors

هناك عوامل عدة تزيد من التهاب الجيوب الأنفية المزمن منها :-

- 1- التشوهات التشريحية مثل الانحراف الأنفي وزيادة حجم الفقاعة الغربالية Bulla ethmoidalis .
- 2- تلوث الهواء .
- 3- التعرض للرطوبة والاعفان .
- 4- التدخين والتدخين السلبي .
- 5- الحساسية والربو .
- 6- العوامل الوراثية .
- 7- نقصان المناعة الفطرية .
- 8- الارتداد المريئي - المعدي .
- 9- الغشاء الحيوي biofilm .
- 10- التليف الكيسي Cystic fibrosis .
- 11- انسداد فتحات الجيوب الأنفية Ostia patency .
- 12- خلل في وظيفة الأهداب .
- 13- المرض التحسسي التنفسي المتفاقم بسبب الاسبرين Aspirin exacerbated . respiratory disease

14- التهاب العظم .

15- تكوين المستضد الإضافي من قبل المكورات العنقودية *Staph.* super antigen from *aureus* (Desrosiers *et al.*,2011;Hamilos,2011) .

3:2 أنواع التهاب الجيوب الأنفية المزمن Types of Chronic Rhinosinusitis

هناك عدة أنواع من التهاب الجيوب الأنفية وقد يكون مصاحباً لتكون الزوائد الأنفية ومنها:-

• التهاب الجيوب الأنفي الفطري التحسسي Allergic Fungal Sinusitis(AFS)

التهاب ناتج عن وجود الفطريات بصورة تعايشية في الجيوب الأنفية ويمكن أن تعمل بوصفها منشطاً قوياً للمستقبلات الجزيئية المرتبطة بالكائن الممرض والتي تحث المناعة الطبيعية وتؤدي إلى تكوين كثيف للخلايا اللمفاوية TH2 و استجابة التهابية وتجمع خلايا الدم الحمضة .

• مرض الجهاز التنفسي المتفاقم بسبب التحسس للأسبرين Aspirin Exacerbated Respiratory Disease(AERD)

اعتلال ناتج عن التحسس للأسبرين حيث يحدث خلل شامل مع عتمة في الجيوب الأنفية يلاحظ من خلال الفحص بالمجهر الماسح (CT-Scan) كتل الزوائد الأنفية مع التهاب في الجيوب وقد يعود الالتهاب بعد العملية الجراحية (Steinke and Wilson,2016).

• التهاب الجيوب الأنفية غير المصاحب لخلايا الدم الحمضة Non Eosinophilic sinusitis(NES) ينتج هذا النوع بسبب الانسداد المزمن والمستمر لفتحة الحبيب الناتج عن التهاب الأنف الفيروسي , التحسسي ,استعداد تشريحي أو عوامل أخرى ويقود ذلك إلى امتداد الإصابة الجرثومية (Shah *et al.*,2016) .

• التهاب الجيوب الأنفية المصاحب لفرط التنسج Chronic Hyper Plastic Sinusitis(CHPS)

التهاب يشخص بواسطة التراكم المستمر لخلايا الدم الحمضة في الجيوب الأنفية وتكون مرتبطة أيضاً بتكوين الزوائد الأنفية ويلاحظ في الفحص النسيجي تراكم كميات من خلايا الدم الحمضة وازدياد الساييتوكينات والكيموكينات (Desrosiers *et al.*,2011; Gleeson *et al.*,2008).

4:2 جراحة الجيوب الأنفية باستخدام الناظور Endoscopic Sinus Surgery (ESS):-

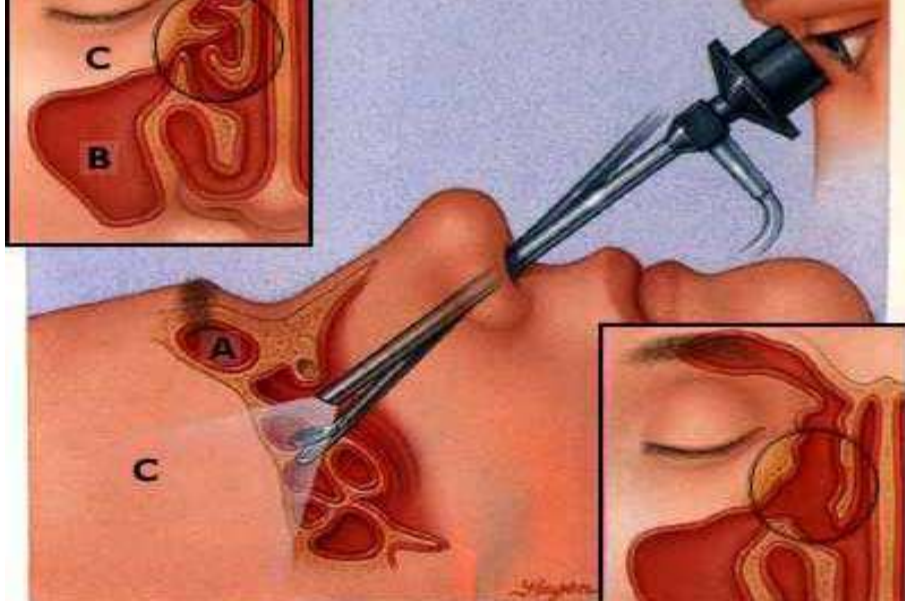
تعد جراحة الجيوب الأنفية الوظيفية باستخدام الناظور أكثر الطرق انتشاراً ونجاحاً لعلاج التهاب المزمّن المصاحب للزوائد الأنفية وغير المصاحب لها والذي يستحيل أو يصعب علاجه بالأدوية، إذ تعتمد الجراحة على تحسين وظيفة وفعالية ما يسمى بـ Osteo Meatal Complex OMC وهو المساحة الواقعة بين الزعنفة السفلية والوسطية والذي يعتبر مجمع لإفرازات الجيوب الجبهية والمصفوية الأمامية والفكية وذلك من خلال التداخلات في جدار الأنف (Carceller and Sandemetrio,2014; Kaplan,2013; Bezerra et al.,2012; Basilio et al.,2010).

لا تخلو هذه الجراحة من المخاطر بسبب قرب تراكيب الجيوب الأنفية من أعضاء حساسة كالعين والدماغ. ينجز التنظير الأنفي باستخدام ناظور مصنوع من ألياف بصرية لرؤية تراكيب الأنف والجيوب الأنفية إذ يتم إدخال الناظور الدقيق داخل الأنف من قبل الجراح وتتم هذه العملية تحت التخدير الموضعي أو العام (Tan and Poopalalingam, 2014; Chopra et al.,2006).

يعد الطبيب Hirschmann أول من استخدم ناظور المثانة لفحص تجاويف الجيوب الأنفية وذلك في سنة (1901). تتبع ذلك الطبيب Reichert الذي أنجز أول جراحة للجيب داخل الأنف باستخدام ناظور أنفي قطره (7 ملم) وكان ذلك في سنة (1910)، كما شجع الطبيب Malt سنة (1925) استخدام الناظور الأنفي للتقييم التشخيصي لتجاويف الجيوب الأنفية إذ صاغ مصطلح Sinuscopy وهو مصطلح أطلق على الطريقة التي يشاهد فيها الجيب الأنفي بوساطة وضع الناظور داخل المجرى السفلي (Inferior meatus) وبسبب الإضاءة غير الكافية وصعوبة الدخول إلى أعماق الجيوب الأنفية لم ينتشر استخدام الناظور حتى سنة (1960) عندما طور البروفسور Hopkins نظام القضيب البصري المصنوع حيث تحسنت الدقة بشكل كبير وذلك لتوسع مجال الرؤيا الناتج عن زيادة شدة الضوء ستة أضعاف عن الناظور السابق (Gleeson et al.,2008).

يعد الطبيب Messerklinger أول من استخدم الناظور الأنفي بوصفه منهجاً لإجراء جراحة الجدار الأنفي الجانبي والأهداب المخاطية للجيوب الأنفية وخلال دراسته ومقالاته المصورة التي أخذها خلال الناظور الأنفي حدد انتشار الإصابة لتجاويف الجيوب إذ تظهر في بدايتها عن طريق انتشار المرض خلال الطيات الضيقة للجدار الجانبي للأنف حيث أدى هذا إلى ظهور فكرة الإزالة الجراحية بالناظور الداخلي للمرض في هذه المنطقة وتكبير الفتحة الطبيعية للجيب والتي تؤدي إلى التخلص من المرض من خلال الجيوب المجاورة وأخيراً جمع هذا الطبيب كل ملاحظاته المأخوذة عن طريق الناظور ونشر ما وجده سنة (1978) مع ذلك لم تتضمن كتاباته أدلة على ملاحظاته التشخيصية بالناظور الأنفي ولهذا لم يتلقى الانتشار الواسع (Weber and Hosemann,2015; Gleeson et al.,2008; Chopra et al.,2006).

سُحبت الفرصة للطبيب Kennedy (1984) أن يشاهد مقاطع الفيديو لعمل الطبيب Messerklinger في مؤتمر في مدينة دوبروفنك Dubrovnik حيث حفزته مشاهدة الفيديو لزيارة الطبيب Stammberger و Messerklinger في مدينة كراز Graz في النمسا وهناك لاحظ الناظور التشخيصي وتقنيات العمليات الجراحية بشكل مباشر كما زار ايلنكن Erlangen في ألمانيا وهذه الزيارات أكسبته الخبرة بالطرق الجراحية باستخدام المنظار ومكنته من دمج هذه التقنيات مع طريقه الخاصة حيث بدأ العمل مع كارل ستورز Karl Storz لتطوير مجموعة من الأدوات الجراحية لجراحة الجيوب الأنفية باستخدام الناظور وأطلق Kennedy مصطلح جراحة الجيوب الأنفية الوظيفية باستخدام الناظور (Functional Endoscopy Sinus Surgery (FESS) وانتشرت هذه التقنية منذ ذلك الوقت (Gleeson *et al.*, 2008; Wormald, 2005).



الصورة (2-3) تقنية جراحة الناظور الأنفي



الصورة (4-2) وحدة الناظور الأنفي في صالة عمليات مستشفى الجمهوري
2013/12/1

5:2 دور الجراثيم في التهاب الجيوب الأنفية المزمن The role of bacteria in

CRS :-

تلعب الجراثيم دوراً مهماً في التهاب الجيوب الأنفية المزمن إذ أشار الباحث Desrosiers وآخرون (2011) إلى أن المكورات العنقودية الذهبية تشارك في تطور التهاب الجيوب الأنفية المزمن وتعد ممرضاً مهماً وخاصة المنتجة للذيفان المعوي Enterotoxin بالرغم من أنها قد تتواجد في الأشخاص الأصحاء حيث تتواجد في المجرى الوسطي للأنف كفلورا طبيعية وكذلك في الطبقة المخاطية للأنف كما توجد أنواع جرثومية أخرى مثل *Diphtheroids* ، *Strept.viridans* ، *Propionibacterium acnes* ولاهوائيات أخرى وذكر أيضاً أن الممرضات الرئيسية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن وخاصة المصاحب للزوائد الأنفية تتضمن *Staph.aureus* ، *Enterobacteriaceae spp.* ، *Pseudomonas spp.* والأقل شيوعاً *β-hemolytic Streptococcus* ، *H. influenzae* ، *Strept. pneumoniae* .

ذكر الباحث Pandak وآخرون (2011) أن الجيوب الأنفية بيئة ليست معقمة تماماً إذ لاحظ أن أكثر الجراثيم المعزولة من الطبقة المخاطية للجيوب الأنفية للمرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن هي الجراثيم الموجبة لصبغة كرام مثل المكورات العنقودية *Staph.aureus* ، *Staph.epidermidis* ، *Streptococcus pneumoniae* و *Strept.viridans* ، بينما وجدت الجراثيم السالبة لصبغة كرام مثل *E. coli* ، *Acinetobacter spp.* ، *H. influenzae* ، *Enterococcus faecalis* ، *Morganella morganii* ، *Prot. mirabilis* و *Neisseria* spp. في ثلث العينات المأخوذة.

لاحظ الباحث Nigro وآخرون (2006) إلى إن أكثر الأنواع الجرثومية تكراراً في حالات التهاب الجيوب الأنفية المزمن هي المكورات العنقودية السالبة لأنزيم التجلط Coagulase Negative Staphylococci(CNS) بنسبة (12.1%) تليها *Staph.aureus* بنسبة (9.7%) أما الأنواع *Peptostreptococcus magnus* ، *Entero. aerogenes* ، *H. influenzae* ، *Prop. acnes* و *Peptostreptococcus spp.* وجدت بنسبة (7.3%) لكل نوع . أكد الباحث Winn وآخرون (2006) أن الجراثيم المسببة لالتهاب الجيوب الأنفية الحاد هي الفيروسات، *Streptococcus pneumoniae* ، *Moraxella catarrhalis* و *H. influenzae* وعندما يتطور الالتهاب إلى المزمن تكون للعصيات السالبة لصبغة كرام اللاهوائية اختيارية، الجراثيم اللاهوائية والفطريات الدور الرئيس في الإصابة.

اقترح الباحثان Brook و Frazier (2005) فرضية حول آلية إصابة الجيوب الانفية بالمكورات العنقودية المنتجة للذيفان المعوي Enterotoxin ومنتجاتها التي تعمل كمستضد إضافي

والذي يسبب تكوين الكلوبولين المناعي نوع E المتعدد النسيلة الموضعي Local polyclonal IgE إذ تسبب الإصابة بهذه المكورات التهاب الجيوب الأنفية المزمن المصاحب للزوائد الأنفية وخلايا الدم الحمضة وتزداد في حالات الربو والتحسس للأسبيرين.

اعتقد الباحث Hashemi وآخرون (2005) إن الجراثيم هي المسؤولة عن التهاب الجيوب الأنفية المزمن المصاحب وغير المصاحب لتكون لزوائد الأنفية كما استنتج أن أكثر الأنواع الشائعة هي المكورات العنقودية السالبة لأنزيم التجلط، *Staph.aureus* والعصيات السالبة لصبغة كرام، كما ذكر الباحث Brook (2004) أن نسبة الجراثيم المنتجة لإنزيم اللاكتاميز β -Lactamase Producing Bacteria(BLPB) هي (58-83%) مقارنة بنسبة الجراثيم المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية الحاد وكانت (32-43%).

يعد الجيب الفكي بيئة معقمة في الأشخاص الأصحاء إلا أنه في بعض الأحيان يستعمر من قبل الجراثيم وفي حالات التهاب الجيوب الأنفية المزمن تكون الجيوب ملجأ لعدد من الأنواع الجرثومية مثل CNS ، *Prevotella spp.* أو *Fusobacterium nucleatum* حيث أشار الباحث Paju وآخرون (2003) إن الجراثيم المتواجدة في الفم ربما تصعد من خلال الزعنفة الوسطية إلى الجيب الفكي أو من خلال قناة أوستاكي إلى الأذن الوسطى مسببة الالتهاب إذ إن الجراثيم الهوائية *Strept.viridans* تتواجد في الفم وعزلت من حالات التهاب الجيوب الأنفية المزمن وأشار الباحث إلى أن نصف المرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن عزلت منهم جراثيم هوائية ولا هوائية ، كما تسبب بعض الأنواع الهوائية الأخرى التهاب الجيوب الأنفية المزمن مثل *Stenotrophomonas maltophilia* ، *M. catarrhalis* ، *Granulicatella adiacens* وبعض الأنواع اللاهوائية مثل :-

Fusobacterium nucleatum ، *Bifidobacterium dentium*
Prevotella spp. ، *Micromonas micros* ، *Gemella morbillorum*
(Finegold et al.,2002) *Str.stellatus*

6:2 الحساسية والربو ودورهما في التهاب الجيوب الأنفية المزمن The Role of

Allergy and Asthma in Chronic Rhinosinusitis

تلعب الحساسية والربو دورا مهما في التهاب الجيوب الأنفية المزمن حيث أن المرضى المصابين بأحدهما أو كلاهما يزداد لديهم عامل الخطورة للإصابة بالجيوب الأنفية وكذلك تؤدي الحساسية إلى التهاب الأنف وبالتالي يمتد الالتهاب إلى الجيوب الأنفية إذ لاحظ الباحث Hellings وآخرون (2013) أن التهاب الجيوب الأنفية المزمن قد يكون تحسسي لذلك يجب أن يعتمد التشخيص على وجود الحساسية وذلك بقياس IgE في مصل مرضى الجيوب الأنفية المزمن .

ذكر الباحث Desrosiers وآخرون (2011) إن التهاب الأنف والجيوب الأنفية يقسم إلى صنفان التحسسي (سببه عوامل محسسة مخرشة التي ليس للجراثيم دور فيها) أو غير التحسسي (أي فيروسي أو جرثومي). تحدث تغيرات مناعية وذلك بسبب تأثير الساييتوكين الذي تنتجه Th2 ومستقبلاته كما لوحظ ارتفاع نسبة الكلوبولين المناعي من نوع IgE في المرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن التحسسي كذلك في مرضى الجيوب الأنفية المزمن غير التحسسي أيضا (Akdis *et al.*, 2015; Kato, 2015).

يحدث تغيرات عديدة في المرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن منها :-

تغيرات في الطبقة الطلائية المخاطية , زيادة ترسيب بروتينات المادة الأساس الخارج الخلوية مثل الكولاجين , زيادة التعبير الجيني لعوامل النمو و profibrotic cytokines مثل IL6, IL11, (IL17, TGF-beta and Platelet-derived growth factor) كما يحدث ارتفاع في نسبة ارتشاح خلايا الدم الحمضة في الدم والقشع وارتفاع مستويات اوكسيد النتريك Nitric oxide وخاصة في مرضى الربو (Kennedy and Borish, 2013; Desrosiers *et al.*, 2011; Matsuwaki *et al.*, 2008).

ذكر الباحث Hamilos (2011) ان انتشار الحساسية في المرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن (المصاحب وغير المصاحب لتكون لزوائد الأنفية) يقدر بـ (60 %) تكون الحساسية لديهم دائمة في اغلب الأحيان وليست موسمية ومحسساتها هي غبار الحلم المنزلي House mites dust ,سبورات الفطريات الموجودة داخل المنزل أو خارجه ،وبر الحيوانات ،الصراصير وفي بعض الأحيان الريش إذ تكون هذه المحسسات موجودة بنسب عالية ولمدة طويلة من الوقت مقارنة بالمحسسات الموسمية كغبار الطلع كما يمكن أن تنمو سبورات الفطريات داخل الطبقة المخاطية للجيوب الأنفية ولهذا تزيد من تحفيز الحساسية لدى المرضى. أشار الباحث أيضا إلى أن الدراسات النسيجية للجيب المصفوي Ethmoidal sinus وأنسجة الزوائد الأنفية Nasal polyps أكدت وجود T-Cells وإنتاج الساييتوكين Th2 موضعي والذي يؤدي إلى تحفيز IgE الموضعي وارتشاح خلايا الدم الحمضة وبقاءها في الأنسجة مما يؤدي إلى التهاب تحسسي .

أكد الباحث Payne وآخرون (2011) والباحث Matsuno وآخرون (2008) أن الحساسية تؤدي إلى ارتشاح خلايا الدم الحمضة وتراكمها في الطبقة المخاطية المبطن للجيوب الأنفية والذي يؤدي إلى التهاب الجيوب الأنفية المزمن ويسمى ذلك التهاب الجيوب الأنفية المزمن المصاحب لفرط التنسج وزيادة خلايا الدم الحمضة (Chronic Hyperplastic Eosinophilic Sinusitis (CHES) وهو مرض التهابي غير مكبوح يتم فيه تجنيد خلايا الدم الحمضة وتساعد عوامل النمو على بقائها وترشيحها في الأنسجة بغزارة و يحدث ذلك بعد التعرض لمحسسات هوائية ويعطي تغيرات في الأنسجة المبطن وتفاقم تدفق خلايا الدم الحمضة إلى الجيوب الأنفية كما يؤدي وجود الجراثيم والفطريات المتعايشة في

الجيوب الأنفية أو التي تكون داخل الأغشية الحيوية إلى تكوين IgE والذي يؤدي إلى زيادة الحساسية والربو لدى مرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن .

أشار الباحث Rosenfeld وآخرون (2007) إلى أن نسبة انتشار الحساسية في مرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن هي (40-84 %) في البالغين وأن الالتهاب مرتبط بالحساسية في (78%) من المرضى الذين يعانون من التهاب الجيوب الأنفية المزمن لكن نسبة الالتهاب المرتبط بالربو بلغت (71%) كما ذكر أيضا أن المرضى الذين لديهم حساسية أكثر عرضة لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن من غير المتحسسين لذا يجب أن يجري اختبار الحساسية لمرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن لمعرفة سبب الالتهاب هل هو تحسسي أم لا.

7:2 دور الغشاء الحيوي في التهاب الجيوب الأنفية المزمن The Role of Biofilm in Chronic Rhinosinusitis

يعرف الغشاء الحيوي على أنه تركيب ذو تنظيم عالي يتكون من مجتمعات جرثومية مكونة من نوع واحد أو أكثر تقع داخل مادة خارج خلوية متعددة السكريات ثلاثية الأبعاد والتي تمثل (90%) من الكتلة الحيوية كما يشكل الماء فيها (95 %) ، الخلايا الجرثومية (15%) من حجم الغشاء وتشكل المواد الأساس الخارج خلوية (85%) من هذه الأغشية (Kostakioti et al.,2013; Donlan and Costerton,2002).

يلعب الغشاء الحيوي دورا في أمراض الأنف والأذن والحنجرة ومنها التهاب الأذن الوسطى، الورم الكوليستيريولي cholestoma ، التهاب اللوزتين، التهاب الجيوب الأنفية المزمن المصاحب للزوائد الأنفية وهذا يعزى سبب رجوع الالتهاب بعد إجراء عملية التنظير الأنفي (Trombitas et al.,2015; Chen et al.,2012) إذ أكدت الدراسات أنه يساهم بصورة كبيرة في حالات التهاب الجيوب الأنفية التي لم تعالج باستخدام المضادات الحيوية إذ لوحظت الأغشية الحيوية في العينات الجراحية المأخوذة من مرضى مصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن وجد Ramadan وآخرون (2005) وجود الغشاء الحيوي في (44%) من مرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن، كما وجد Forman وآخرون (2010) أن (90%) من مرضى التهاب الجيوب الأنفية لديهم أغشية حيوية ، وهذا يفسر الطبيعة الراجعة لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن وخاصة المصاحب للزوائد الأنفية وعدم استجابته للعلاج بالمضادات الحيوية (Ramakrishnan et al.,2015; Bezerra et al.,2009; Sanderson et al.,2006).

لاحظ الباحث Bachert وآخرون (2014) أن هناك عدة جراثيم مكونة للغشاء الحيوي والمسببة لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن منه *M. Str.pneumoniae* , *Staph.aureus* , *H.influenzae* و *catarrhalis* ذكر الباحث You وآخرون (2011) أن نسبة وجود الغشاء الحيوي في مرضى الجيوب الأنفية المزمن هي (32.5-96%) إذ ذكر أن الأغشية الحيوية هي المسبب الشائع للإصابات

المستمرة المزمدة و لوحظ وجود الغشاء الحيوي في الطبقة المخاطية للجيب الفكي والمصفوي كما لوحظ تغيرات في الطبقة المخاطية ,فقدان ترتيب الأهداب ,أو حتى الغياب الكامل للأهداب والخلايا الكأسية ولوحظ أيضا وجود أنواع عديدة من الجراثيم منها :-

Staph.aureus, Staph.epidermidis, Pseudomonas aeruginosa, E.coli, Kleb. pneumoniae

أشار الباحث Payne وآخرون (2011) إلى دور الأغشية الحيوية في الإصابات المزمنة في مرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن الذين أجريت لهم جراحة الناظور الأنفي إذ لاحظ أن الجراثيم التي تكون الأغشية الحيوية في إصابات التهاب الجيوب الأنفية المزمن تكون مصدر للمستضدات الإضافية مثل *Staphylococcus species –derived superantigens* , مساعدات, ذيفانات وعوامل قبل التهابية *proinflammatory factors* أخرى وهذا يفسر التهاب الجيوب الأنفية المزمن نوع Aspirin *Exacerbated Respiratory Disease (AERD)* والذي فيه *Staphylococcus species* *derived superantigens* يعمل على تحفيز الكلوبولين المناعي المتخصص نوع Specific IgE مما أدى إلى زيادة شدة الالتهاب كما أشار الباحث Hamilos (2011) إن الأغشية الحيوية ترتبط بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن القاسي حتى بعد إجراء جراحة الناظور الأنفي لهم.

كما أكد الباحث Desrosiers وآخرون (2011) أن تأكيد وجود الأغشية الحيوية في العينات النسيجية المأخوذة من مرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن تحتاج إلى تحليل بصمة الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA fingerprint للجينات المكونة للغشاء الحيوي في الجراثيم المسببة للالتهاب.

لاحظ الباحثان Macassey و Dawes (2008) إن 77.8% من العينات المأخوذة من الطبقة المخاطية من الجيوب الأنفية لمرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن كان لديهم أغشية حيوية وظهر الفحص بتقنية *Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)* أن أكثر الكائنات الشائعة في الأغشية الحيوية هي:

Strept. pneumoniae, Staph.aureus, H. influenzae (Foreman et al.,2013;Sanclement et al.,2005)

1:7:2 مراحل تكوين الغشاء الحيوي Stages of Biofilm Formation :-

تتضمن مراحل تكوين الغشاء الحيوي ما يأتي:-

- 1- التلامس العشوائي للجراثيم بأسطح حية وغير حية.
- 2- إنتاج مادة خارج خلوية التي تلتصق الجراثيم بالسطح .

- 3- تكوين المستعمرة الدقيقة Microcolony وهي تجمعات ثنائية الأبعاد تبدأ بالنمو العامودي حالما تصل إلى الكتلة الحرجة وتؤدي إلى تكوين أبراج ذات قنوات مائية متداخلة وزيادة إفراز المادة الأساس الخارج خلوية البوليميرية وتكوين شكل يشبه المشروم أو الشرغوف .
- 4- انسلاخ وتحرر الجراثيم الحرة (العوالق) إذ تسبح مبتعدة لتستعمر مناطق أبعد للحفاظ على دورة الجراثيم (Willey et al.,2014;Pereira et al.,2010;Tamashiro et al.,2009).

2:7:2 مميزات الخلايا الجرثومية في الغشاء الحيوي Characteristics of bacterial cells in biofilm :-

- 1- زيادة التصاق الخلايا الجرثومية في الغشاء الحيوي بالأسطح .
- 2- التراكم الحيوي للخلايا الجرثومية حوالي 10^{10} خلية /سم³ من الغشاء الحيوي الرطب مقارنة بالعوالق (10^5 خلية /سم³).
- 3- نسبة التحمل العالي للخلايا الجرثومية للعوامل ضد الجرثومية .
- 4- تمتلك الخلايا الجرثومية مستوى واسع من التغيرات الكيميائية, الايضية والفيزيائية .
- 5- هناك تفاعلات غذائية ذات مستوى عالي بين الخلايا الجرثومية في الغشاء الحيوي .
- 6- تمتلك الخلايا الجرثومية في الغشاء الحيوي تنظيم عالي للمجتمع الإحيائي خلال ظاهرة الحس باكتمال النصاب Quorum Sensing .
- 7- تكون اقل حساسية لميكانيكيات الدفاعية للمضيف من العوالق .
- 8- تظهر الخلايا الجرثومية في الغشاء الحيوي بعض الصفات المظهرية التي لم تظهرها من قبل (Patel et al.,2014).

3:7:2 فوائد الغشاء الحيوي Advantage of Biofilm :-

- 1- تظهر الأحياء المجهرية في الغشاء الحيوي تحمل عالي للمضادات الحيوية وأيضاً تحصل على حماية من ضغوطات البيئة مثل الدالة الحامضية pH المتطرفة ,الأوكسجين, الصدمة الازموزية , الحرارة, التجمد, الأشعة فوق البنفسجية, المفترسات وغيرها.
- 2- تزيد المادة متعددة السكريات الخارج خلوية من ارتباط الماء الذي يؤدي إلى تقليل فرصة الجفاف للخلايا الجرثومية والذي هو مشكلة بالنسبة للخلايا الحرة والعوالق.
- 3- تسمح الطبيعة اللاصقة للخلايا الإحيائية في الغشاء الحيوي بتبادل سريع للمواد الغذائية , المؤيضات والمواد الجينية (Długaszewska et al.,2016; Wu et al.,2015; Patel et al.,2013; Tamashiro et al.,2009).

- 4- مقاومة المضادات الحيوية داخل الغشاء الحيوي حيث تحمي الجراثيم نفسها عند تواجدها داخل الغشاء الحيوي إذ تصبح البكتيريا مقاومة (10-1000) مرة أكثر من العوالق .
- هناك عدة ميكانيكيات افترضت لمقاومة المضادات الحيوية داخل الغشاء الحيوي منها :-
- أنها تعتمد على إبطاء أو تأخير نفاذ المضاد الحيوي إلى الغشاء الحيوي بسبب المادة الأساس المتعددة السكريات الخارج خلوية والتي تظمر فيها الأحياء المجهرية حيث أن الكلورين وهو مطهر معروف يكون فقط قادر للوصول إلى (20%) من الغشاء الحيوي .
 - إن الجراثيم مثل *Staph.epidermidis* وخمائر *Candida albicans* في الغشاء الحيوي تعمل على تقليل سرعة نفاذ المضادات الحيوية فالغشاء الحيوي المتكون من *Pseudomonas aeruginosa* قلل نفاذ الـ aminoglycosides إلى داخل الغشاء الحيوي ويعود ذلك إلى ارتباط aminoglycosides بمادة aliginat (متعدد السكريات)
 - التغير الكيميائي للبيئة الدقيقة داخل الغشاء الحيوي .
 - إن معدل النمو للخلايا داخل الغشاء الحيوي يكون (0.70 ساعة⁻¹) مقارنة بـ (1.09 ساعة⁻¹) في العوالق حيث أن معدل النمو البطيء يعطي الجراثيم حماية ضد المضادات الحيوية لأن معظم المضادات تؤثر على الجراثيم من خلال تأثيرها على الفعاليات الأيضية حيث أن خلايا الجراثيم في الغشاء الحيوي تكون شبه ساكنة (Naparstek et al.,2014;Patel et al.,2014;Spoering and Lewis,2001) .

8:2 جين mrkA احد الجينات المتجمعة المسؤولة عن تكوين الغشاء الحيوي mrkA **:- Gene One of Cluster Genes Responsible for Biofilm Formation**

هناك عدة ميكانيكيات تستخدمها الجراثيم الممرضة السالبة لصبغة كرام لالتصاق بالأسطح الحية وغير الحية ومن هذه الميكانيكيات هي :

- 1- الأهداب نوع (1, 2, 3, 4)
- 2- الشعيرات المقترنة والمجعدة curli and conjugative pili.
- 3- المواد اللاصقة على سطح الخلية cell surface adhesions مثل بروتينات النقل الذاتي autotransporter proteins والمستضدات 43 , UpaH و UpaG .
- 4- الاسواط (Ong et al., 2010).

الهدب النوع الثالث Type 3 fimbriae يطلق عليه أيضا mannose resistant hemagglutinin MR/K HA وقد وصف في العديد من الممرضات السالبة لصبغة كرام إذ شخص وجوده في سلالات *Kleb. pneumoniae* كما تم تشخيصه في أفراد العائلة المعوية

, Proteus , Morganella , Serratia , Enterobacter. ومنها *Enterobacteriaceae* *Citro.koseri* و *Citro.freundii*, *E.coli* , Yersinia و Salmonella , Providencia (Christensen,2016;Johnson *et al.*,2011).

يكون طوله 0.5 – 2 مايكروميتر وعرضه 2-4 نانوميتر له القابلية على التوسط في تلازن Tannic acid –treated human RBC/MR K agglutination إذ يعود هذا النوع من الأهداب إلى صنف Chaperone-Usher. يشفر هذا النوع من قبل خمسة جينات متجمعة تسمى *mrk* gene cluster وهي (*mrkA,B,C,D,F*) مرتبطة على نفس جهة النسخ transcriptional orientation. هذه الجينات تشابه الاوبرونات operons الهدبية الأخرى لصنف Chaperone-Usher في انه يحتوي على جينات تشفر لوحداث كبيرة من البروتين وهو *MrkA* (encoding major Mrk A subunit) حيث يعد جين *mrkA* احد الجينات المهمة لبناء الهدب نوع 3 الذي يكون مسؤول عن الالتصاق وتكوين الغشاء الحيوي إذ يشفر لبروتين الوحدة الرئيسية التي تدخل في تركيب الهدب واخيرا جين *mrkF* فهو مسؤول عن تشفير الوحدة الثانوية للهدب minor subunit protein يشفر الجين *mrkB* للجابرون وجين *mrkC* يشفر لـ Usher ،بينما جين *mrkD* فهو يشفر للمادة اللاصقة adhesion واما الجين *mrkE* فهو جين افتراضي منظم regulatory gene يقع في بداية Upstream جين *mrkA* (Johnson *et al.*,2011; Ong *et al.*, 2010).

لوحظ أن جينات *mrk* تقع في عدة مواقع منها الكروموسوم ,البلازميدات المقترنة conjugative plasmids وداخل العنصر القافز المركب composite transposon إذ ينتقل جين *mrk* بواسطة البلازميد الحاوي عليه إلى سلالات مختلفة مثل :

Salmonella enteric serovar Typhimurium, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* and *Kluyvera* spp. وهذا يشير إلى انتشار الجين *mrk* بين الممرضات السالبة لصبغة كرام بواسطة انتقال الجين الجانبي lateral gene transfer (Ong *et al.*, 2010).

حديثا تم تأكيد دور الأهداب نوع 3 في تكوين الغشاء الحيوي في سلالة *E.coli* معزولة من مرضى مصابين بالتهاب الجهاز البولي المرتبط بالقثطرة catheter associated urinary tract infection وجد الجين *mrk* محمول على البلازميد pMS2027 وهو احد البلازميدات الموجودة في جرثومة *E.coli* كذلك وجد في البلازميد pOLA52 الموجود في سلالة *E.coli* CSH26 كما لوحظ وجود هذا الجين محمول على البلازميد المشابه لـ pOLA52 الموجود في جرثومة *Klebsiella pneumoniae* (Burmølle *et al.*,2008).

ذكر الباحث Schroll وآخرون (2010) أن الهدب نوع 3 هو الذي يتوسط تكوين الغشاء الحيوي في جرثومة *Klebsiella pneumoniae* إذ يحفز الالتصاق بالأسطح الحية وتكوين الغشاء الحيوي في هذه

الجرثومة وأنواع أخرى ، يلعب هذا الهدب دوراً مميزاً في تطور الإصابات التي لها علاقة بالتهاب الجهاز التنفسي العلوي وإصابات أخرى ، حيث وجد ان جميع جراثيم *Kleb. pneumoniae* المعزولة من إصابات الجهاز التنفسي تعبر عن الهدب نوع 3 ومعظمها تمتلك جينات *mrk*.

9:2 تصنيع الدقائق النانوية من قبل جرثومتي (*Proteus mirabilis* و *E.coli*)

Synthesis of Nanoparticles by *E.coli* and *Proteus mirabilis*

تعرف التقنية النانوية Nanotechnology أو تقنية الصغائر على أنها العلم الذي يهتم بدراسة معالجة المادة على مقياس الوزن الجزيئي إذ تهتم هذه التقنية بابتكار تقنيات ووسائل جديدة تقاس أبعادها بالنانوميتر وهو جزء من الألف من المايكروميتر أي جزء من المليون من المليمتر وعادة تتعامل هذه التقنية مع قياسات بين 0.1 – 100 نانوميتر أي تتعامل مع تجمعات ذرية تتراوح بين خمسة إلى ألف ذرة وهي أبعاد اقل كثيرا من أبعاد الجرثومة والخلية الحية ونتيجة لمساحاتها بالنسبة لحجمها الصغير فتكون ذات فعالية كبيرة (Sekhon,2010).

الشرط الأول لكلمة Nanotechnology الـ Nano مشتقة من الكلمة الاغريقية nanos التي تعني "قزم" في اليونانية وتعود إلى الأشياء التي حجمها واحد من مليار 10⁹ من المليمتر اما الشرط الثاني الـ technology يعني تقنية . إن أصل مصطلح التقنية النانوية عرف لأول مرة عام 1974 من قبل الباحث الياباني Norio Taniguchi إذ يشمل هذا المصطلح: معالجة، فصل، توحيد وتشويه المواد بوساطة ذرة أو جزيئه واحدة (Pandit,2015; Narayanan and Sakthivel, 2010).

تطور هذا العلم في بداية 1980 وذلك بسبب اختراع علم المجاميع Cluster واختراع المجهر الماسح النفقي (Scanning Tunneling Microscope (STM) والذي أدى إلى اكتشاف الفولارينات وهي دقائق نانوية مكونة من ذرات الكربون مترابطة ثلاثيا تعطي شكل كريات لها بناء يماثل الكرافيت ولكن بدلا من الشكل السداسي النقي فإنها تحتوي على أشكال خماسية وربما سباعية من ذرات الكربون مما يؤدي إلى انثناء الطبقات إلى كريات أو اسطوانات (Al-Kawas,2013;Liu and Zhao, 2013).

ان التقنية النانوية الحيوية Nanobiotechnology هي موضوع جديد للأبحاث له عدة مجالات كالتقنية الحيوية Biotechnology ، التقنية النانوية Nanotechnology ،المعالجات الكيميائية Chemical processing ، علم الطرائق الفيزيائية Physical methodology وهندسة النظام System engineering (Hassan et al.,2016; Karthik and Radha,2012) .

1:9:2 أهمية التقنية النانوية Importance of Nanotechnology :-

تعد التقنية النانوية علم متعدد التخصصات وهو علم يزدهر يوما بعد يوم له القابلية على هندسة خواص المواد بواسطة السيطرة على الحجم , الشكل وغيرها من خواص المواد ويغطي مجموعة واسعة من المواضيع ويتخلل مجالات عديدة منها العلوم, الكيمياء, العلوم الإحيائية , الطب, الفيزياء التطبيقية , الهندسة , الالكترونيات وكثير من الاختصاصات الأخرى (Lakshmipathy and Nanda,2013; Yoon *et al.*,2011; Zimmerli and Sandi, 2011).

هناك عدة طرق لتصنيع المواد النانوية تم تقسيمها إلى قسمين رئيسيين:

- الأولى تدعى (Top-Down) من أعلى إلى أدنى إذ يتم تكسير المادة الأصلية (الكبيرة) شيئا فشيئا حتى الوصول إلى الحجم النانوي وتستخدم عدة طرق لذلك منها الحفر الضوئي, القطع ,الكحت والطحن إذ استخدمت هذه التقنيات في الحصول على مركبات الكترونية مجهزة كشرائح الحاسوب وغيرها .
- الطريقة الثانية تبدأ من أسفل إلى أعلى (Bottom – Up) إذ إنها بعكس الطريقة الأولى تهتم ببناء المواد النانوية انطلاقا من ذرات ودقائق يتم ترتيبها حتى تصل إلى الشكل والحجم النانوي المطلوب وهذه الطريقة غالبا ما تكون كيميائية وتتميز بصغر حجم المواد الناتجة وقلة الفاقد والحصول على روابط قوية للمادة النانوية الناتجة (Khare and Bose,2005).

تظهر الدقائق النانوية Nanoparticles خواص جديدة أو محسنة اعتمادا على صفات معينة مثل الحجم ,التوزيع والشكل لذلك اعتبرت هذه التقنية مهمة ولها تأثيرات في كل مجالات الحياة البشرية .

خواص الدقائق النانوية :-

- 1- السطح الذري الكبير .
- 2- الطاقة السطحية الكبيرة.
- 3- الانفراد المكاني .
- 4- اختزال العيوب .

احد الجوانب الرئيسة للتقنية النانوية هي الاهتمام بتطوير أنظمة سريعة يمكن الاعتماد عليها لبناء مواد نانوية من مجموعة من التراكيب الكيميائية ، أحجام ،التشتت الأحادي mono dispersity والإنتاج بكميات كبيرة (Saifuddin *et al.*,2009) .

2:9:2 الكيمياء الخضراء لإنتاج الدقائق النانوية Green Chemistry For Producing The**-:Nanoparticles**

هناك طريقة لبناء الدقائق النانوية سميت مسار أو طريق الكيمياء الخضراء (Green chemistry route) إذ اعتبرت كأحسن طريقة وذلك بسبب :-

- 1- بطئ الطاقة الحركية.
- 2- توفير معالجة أفضل.
- 3- السيطرة على نمو البلورات النانوية واستقرارها.
- 4- السيطرة على الشكل والحجم .
- 5- رخيصة الكلفة .
- 6- لا تحتاج حرارة وضغط عاليين .
- 7- لا تستخدم مواد سامة .
- 8- استخدام مواد صديقة للبيئة مثل خلاصة النباتات ،الفطريات والإنزيمات لبناء دقائق نانوية مختلفة ومنها دقائق الفضة النانوية (AgNPs) Silver nanoparticles إذ يستفاد منها في الصناعات الدوائية ،الطب الحيوي biomedicine وذلك لأنها لا تستخدم كيميائيات سامة في البناء على عكس الطرق الكيميائية التي تستخدم مواد كيميائية سامة ممدصة على السطح والتي يكون لها تأثير سلبي على التطبيقات الطبية ولهذا السبب تم تفضيل طريقة البناء الأخضر على الطرق الفيزيائية والكيميائية (Elgorban et al.,2016; Manonmani and Juliet,2011).

ان زيادة الوعي باستخدام الكيمياء الخضراء والعمليات الحيوية قادت إلى الرغبة في تطوير طريقة صديقة للبيئة لبناء دقائق نانوية غير سامة وذلك باستخدام الأحياء المجهرية للبناء وبرزت هذه الطريقة كفرع مهم في تقنية النانو وذلك بسبب تنوعها الهائل ،نواتج الفضلات قليلة جدا ،قلة التلوث و استخدام مواد نانوية لإنتاج طاقة بديلة فعالة أكثر كخلايا الوقود والخلايا الشمسية . تطور بناء المواد النانوية حديثا وذلك باستخدام طرق جديدة تتضمن استخدام الكائنات المجهرية الدقيقة لبناء هذا النوع من المواد مثل *Pseudo.stutzeri*, *Verticilium spp.*, *Fusarium oxysporum*, *Thermomono spora*, *Bacillus subtilis* والعديد من أفراد العائلة المعوية مثل *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli*, *Morganella spp.*, *Entero. cloacae* وغيرها من الأجناس (Saifuddin et al.,2009).

زاد الاهتمام في استخدام الأحياء المجهرية لبناء الدقائق النانوية المعدنية والتي يمكن ان تستخدم لتحفيز أو إزالة الإصابة إذ ينتج البلاديوم النانوي حيويًا (bio-Pd) nanopalladium عن طريق تفاعل الاختزال إذ يختزل ايون البلاديوم (Pd(II) المائي لتوليد دقائق البلاديوم النانوية أو Pd(0) على جدار

الخلية أو داخل الفراغ البلازمي Periplasmic space والساييتوبلازم ويحدث هذا التفاعل في درجة حرارة وضغط الغرفة وهناك عدة كائنات مجهرية استخدمت لتكوين دقائق البلاديوم النانوية منها البكتريا المختزلة للكبريت *Desulfovibrio desulfuricans* و *metal respiring bacterium* و *Shewanella oneidensis* إذ يرتبط إنزيم hydrogenases بالساييتوكروم C3 لاختزال Pd(II) في كلا الكائنين. تبين حديثاً انه bio-Pd يمكن ان ينتج أيضاً تحت ظروف التخمر بواسطة جرثومة *E.coli* و *Clostridium pasteurianum*

(Bankar,2016;Chidambaram et al.,2010;Deplanche et al.,2010;Windt et al.,2006)

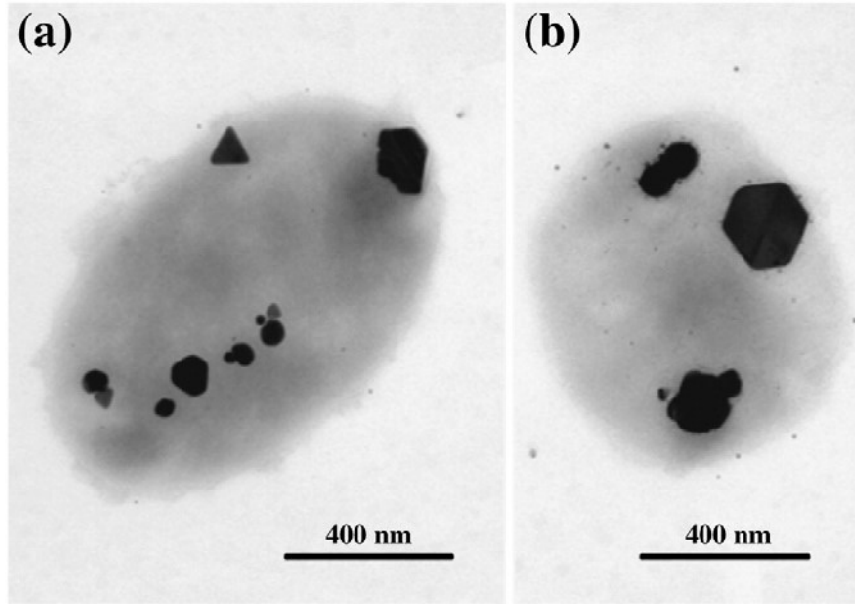
هناك موقعان لبناء الدقائق النانوية :-

1- بناء الدقائق النانوية داخل الخلية الجرثومية :-

يتم بناء الدقائق النانوية داخل الخلية بعدة طرق مثل المعالجة بالموجات فوق الصوتية أو التفاعل مع المنظفات المناسبة ويستفاد منها في استعادة المعادن الثمينة من فضلات المناجم والسوائل المرشحة المعدنية. لوحظ ان *Bacillus subtilis*168 تختزل ايونات الذهب الذائبة بالماء Au^{+3} إلى Au^0 منتجة شكل ثماني الاسطح داخل جدران الخلية أبعادها 5-25 نانوميتر وكذلك وجد ان *E.coli* DH5α تختزل حيويًا حامض كلوريد الذهب إلى دقائق الذهب النانوية إذ تتراكم على سطح الخلية ويكون معظمها

ذو شكل دائري مع أشكال أخرى من مثلثات وشبه سداسي هذه الدقائق المتكونة استخدمت في تطبيقات الكيمياء الالكترونية كما موضح في الصورة 2-5 (Narayanan and Sakthivel, 2010, Du et al., 2007).

. لوحظ الاختزال الحيوي للفضة Ag(I) على سطح الخلية في *Lactobacillus* spp. إذ تنتج فضة نانوية عند درجة حرارة 30 ° م ودالة حامضية 4.5 في 24 ساعة كما أنتجت جرثومة *Corynebacterium* spp.SH09 دقائق الفضة النانوية عند 60 ° م في 72 ساعة على جدار الخلية بحجم 10-15 نانومتر مع معقد فضة ثنائي مجموعة الأمين $[Ag(NH_3)_2]^+$ إذ تزال سمية الفضة بواسطة بروتينات حول بلازمية periplasmic والتي تربط الفضة عند سطح الخلية وبوساطة مضخة التدفق efflux pump حيث تدفع المعادن الداخلة إلى الخارج وتحمي الخلية من سميتها (Zhang et



(al., 2005; Fu et al., 2000).

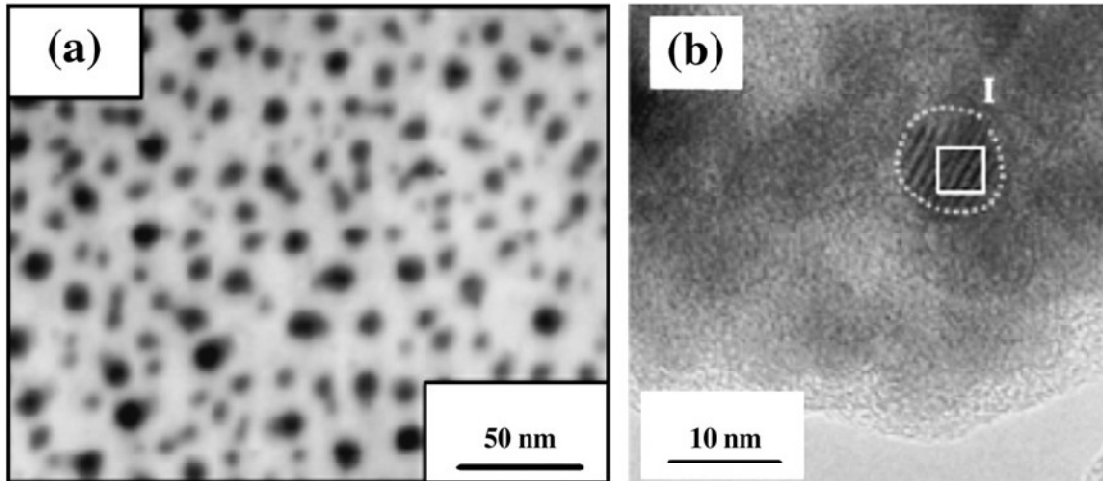
الصورة (2-5) دقائق الفضة النانوية داخل الخلية الجرثومية (a) دقائق الفضة النانوية مثلثة وبيضوية الشكل، (b) دقائق الفضة النانوية ذات شكل سداسي.

(Narayanan and Sakthivel, 2010)

2- بناء الدقائق النانوية خارج الخلية الجرثومية :-

يعتمد هذا النوع من البناء على موقع المكونات الاختزالية للخلية حيث تتواجد الدقائق النانوية المعدنية metal nanoparticles خارج الخلية عندما تشارك الأنزيمات الاختزالية للجدار الخلوي أو الأنزيمات الذائبة المفزة من قبل الجراثيم في عملية الاختزال

وتكوين هذه الدقائق. إن إنتاج الدقائق النانوية المعدنية خارج الخلية له تطبيقات واسعة في الالكترونيات البصرية optoelectronics, الالكترونيات, التصوير الحيوي bioimaging وتقنية المحسسات sensor technology. وجد ان جرثومة *Rhodopseudomonas capsulata* تختزل الذهب Au^{+3} إلى Au^0 عند درجة حرارة الغرفة إذ لوحظت هذه الدقائق النانوية بشكل كروي يتراوح حجمها من 10-20 نانومتر عند دالة حامضية 7.0 باستخدام مجهر TEM لكن بتغير دالة حامضية للمحلول تتكون دقائق نانوية ذات أشكال وأحجام مختلفة فعند الدالة الحامضية 4.0 تظهر دقائق نانوية مثلثة بحجم 50-400 نانومتر وكذلك دقائق كروية بحجم 10-50 نانومتر وكما موضح في الصورة 2-6 (Narayanan and Sakthivel, 2010; He et al., 2008; He et al., 2007)



الصورة (2-6) دقائق الرصاص النانوية خارج الخلية الجرثومية (a) بواسطة المجهر الماسح TEM (b) بواسطة المجهر الماسح ذو الدقة العالية HRTEM .

(Narayanan and Sakthivel, 2010)

أشار الباحث Shah وآخرون (2015) إلى ان جرثومة *E.coli* تبني دقائق الكاديوم النانوية بحجم (2-5) نانومتر وجرثومة *Pseudomonas aeruginosa* تقوم ببناء دقائق الذهب النانوية بحجم (15-30) نانومتر بينما تقوم جرثومة *Pseudomonas stutzeri* ببناء دقائق الفضة النانوية بحجم اكبر من (200) نانومتر كما أكد الباحث Khalil وآخرون (2012) ان جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* تبني دقائق الذهب النانوية خارج الخلية ، وأكد الباحث Namasivayam وآخرون (2010) إلى ان جرثومة *Lactobacillus acidophilus* قامت ببناء دقائق الفضة النانوية بحجم يتراوح من (45-60) نانومتر. لاحظ الباحث Parikh وآخرون (2008)

ان جرثومة *Morganella spp.* وهي جرثومة تعود إلى العائلة المعوية مقاومة للفضة عزلت من أمعاء الحشرات لوحظ أنها تنتج دقائق فضة نانوية كروية الشكل قطرها 20 ± 5 نانومتر ، وأشار الباحث Husseiny وآخرون (2007) إلى ان جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* ATTC9027 تبني دقائق الذهب النانوية خارج الخلية بحجم 30 ± 10 نانومتر ، وأكد الباحث كما ذكر الباحث Mouxing وآخرون (2006) ان الخلايا الجافة لجرثومة *Aeromonas spp.* SH10 تختزل $[Ag(NH_3)_2]^+$ إلى Ag^0 في 4 ساعات وان هذه الدقائق النانوية تتوزع بصورة منفردة وتبقى ثابتة لأكثر من 6 أشهر بدون تجمع أو ترسيب وأشار الباحث Shahrerdi وآخرون (2007) إلى ان راشح المزرعة لأنواع الجراثيم المعوية *Ent.cloacae* و *Kleb. pneumoniae*, *E.coli* والتي تبني بسرعة دقائق الفضة النانوية بوساطة اختزال Ag^+ إلى Ag^0 ويتراوح حجم هذه الدقائق من 28.2 – 122 نانومتر .

3:9:2 البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية *Biosynthesis Of Silver Nanoparticles*:-

أظهرت دقائق الفضة النانوية AgNPs الفعالية الأكثر تأثيراً على الجراثيم، الفيروسات والكائنات المجهرية حقيقية النواة من بين الأنواع المختلفة من المعادن النانوية . ان الفعالية الجرثومية للفضة معروفة جيداً منذ الأزل حيث استخدم من قبل الفرس، الفينيقيين ، اليونان، الرومان والمصريين لعلاج الأمراض المتعلقة بالإصابات الجرثومية (Ahmed et al.,2012; Sawosz et al.,2010).

دقائق الفضة النانوية هي دقائق معدنية نبيلة والتي درست بصورة مستفيضة بسبب خواصها الحيوية المختلفة . ان معدن الفضة هو معدن غير سام لكنه يعد عاملاً ضد جرثومي غير عضوي امن وله إمكانية لقتل مختلف الأنواع الجرثومية المسببة للأمراض وعرف باستخدامه كمضاد للجراثيم، الفيروسات وفي السنوات الأخيرة استخدم بوصفه مادة قاتلة حيوية biocide بشكل دقائق نانوية تتراوح أبعادها من 1 – 100 نانومتر إذ تمتلك هذه الدقائق خواص ايضية ، كيميائية ، بصرية وحيوية فريدة والتي يمكن التلاعب بها بصورة مناسبة لتناسب تطبيقات معينة إذ استخدمت في العديد من المجالات كالالكترونيك النانوي والضوئي ، مستقبلات ضوئية ، تطبيقات حيوية مثل المحسسات الحيوية biosensor ،التعليم الحيوي biolabelling و حاملات جديدة لنقل الدواء إلى الخلايا الهدف new carrier for targeted drug delivery ولهذا اتجهت الدراسات والبحوث لإنتاج الفضة النانوية بطريقة اقتصادية رخيصة وتقنيات صديقة للبيئة وأهمها بناء دقائق الفضة النانوية بطرائق حيوية (Abbaszadegan et al., 2015).

أشار الباحث Keat وآخرون (2015) والباحث Kim وآخرون (2007) إلى تأثير دقائق الفضة النانوية على الخمائر *E.coli* و *Staph.aureus* والعديد من الأحياء المجهرية والذي شجع استخدام هذه الدقائق في الأجهزة الطبية والأنظمة المستخدمة للسيطرة ومكافحة الأحياء الدقيقة .

3:المواد وطرائق العمل Materials and Methods:-**1:3:المواد Materials****1:1:3:العينات Samples:-**

شملت الدراسة (35) عينة (15) ذكور و (25) إناث مصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن والخاضعين لعملية الناظور الأنفي الوظيفي (FESS) Functional Endoscopy Sinus Surgery من مستشفى الجمهوري والربيع الأهلي والزهراوي الأهلي في مدينة الموصل للفترة من آذار (2013) إلى آذار (2014) .

أخذت أربعة أنواع من العينات وهي :-

1- عينات مسحات الأنف قبل إجراء الناظور .

2- عينات مسحة للجيب الأنفي باستخدام الناظور .

3- عينات دم .

4- خزع نسيجية من الزوائد الأنفية .

جمع النوعان الأولان بوساطة ماسحات قطنية معقمة ونقلت باستخدام وسط إيملز الناقل ثم لقحت على وسط ماكونكي، أكار الدم وحضنت الأطباق هوائياً في درجة حرارة (37 °م) لمدة (24-48) ساعة ولقح أكار سابروود دكستروز إذ حضن في نفس درجة الحرارة لمدة (5) أيام، كما لقحت أطباق أكار الدم وأكار الدم المسخن وحضنت في ظروف قليلة الأوكسجين بتوفير غاز ثاني وكسيد الكربون بنسبة (5-10 %) وذلك بوضع شمعة في وعاء التحضين في درجة حرارة (37 °م) لمدة (24-48) ساعة .

1:1:1:3:عينات الدم Blood Samples :-

جمعت عينات الدم والبالغ عددها (35) في أنابيب (Gel clot tubes activator) ونقلت إلى المختبر ، فصل المصل وجمع في أنابيب ابندروف وحفظ في -20°م (Forbes et al.,2007) .

2:1:1:3: عينات الخزع النسجية Biopsy:-

أخذت (10) خزع نسجية من المرضى الذين لديهم زوائد أنفية الخاضعين لعمليات التنظير الانفي الوظيفي (FESS) ووضعت في أنابيب حاوية على (Phosphate buffer saline) ونقلت إلى المختبر وغسلت عدة مرات بنفس المحلول ثم حفظت في أنابيب حاوية على فورمالين بتركيز (4%) .

2:1:3: المرضى Patients:-

أخذت العينات (مسحات انف قبل إجراء الناظور، مسحات للجيب الأنفي باستخدام الناظور، عينات دم، خزع نسجية من الزوائد الأنفية) من كلا الجنسين الذين تراوحت أعمارهم بين (10-70) سنة دونت المعلومات عن المرضى ووجود وتاريخ الحساسية وبعض البيانات المهمة الأخرى كما موضح في المخطط (1-3) في الملحق .

3:1:3: الأوساط ,المواد الكيماوية والمعدات Media, Chemicals and Equipments:-

الأوساط , المواد الكيماوية والمعدات التي استخدمت في هذه الدراسة موضحة في الجداول الآتية:-

الجدول (1-3) الأوساط والمواد المستخدمة في الدراسة الحالية :-

الدولة المصنعة	الشركة	الأوساط
الصين	DANFENG	Amie's test media وسط ايمز
المملكة المتحدة	LAB	Brain heart infusion broth
		Brain heart infusion agar
		Kligar iron agar
		Mannitol salt agar
		Mueller Hinton agar
		MR/VP media
		Nitrate broth
		Nutrient agar and broth
		Nutrient gelatin
		Saubroud dextrose agar
		Simmons' citrate agar
		Trypcase soy broth
		Triple sugar iron agar
		Urea agar base
الهند	HIMEDIA	MacConkey agar
كندا	Maknur	SIM agar
الدولة المصنعة	الشركة	الكواشف
المملكة المتحدة	BioLabs	DNA Ladder
الهند	HIMEDIA	Kovac,s reagent
		Methyl red reagent
		α -naphthylamine
		Omera reagent
		Oxidase reagent
		Sulfanilic acid reagent

الجدول (2-3) الأجهزة التي استخدمت في الدراسة الحالية

الدولة المصنعة	الشركة	الأجهزة
اليابان	Canon digital 14 pix	آلة تصوير
الصين	YXQ.S04.280A	الموصدة
	DANEENG	ماسحة قطنية
	CE	مسطرة قياس الكترونية
	CE	أنابيب gel activator Vacuum tube
	NOVEL	مجهر ضوئي
المملكة المتحدة	JRAD	حاضنة
	Labtech	Microplate washer
	Uni Media	جهاز طرد مركزي
	cleaver Scientific Ltd.MS MINI	Tank and Tray
	BD 1043	Biodrop
ألمانيا	Gallenkamp	Hot Magnetic Stirrer
	STORZ	وحدة ناظور الانف
	Nano-ZS Micotrac	Zetasizer
	ZS Micotrac	Laser Doppler electrophoresis
	Alpha	FT-IR
الولايات المتحدة الأمريكية	Eppendorf AG, 22331	Thermal Cycler
	MADELL Technology Corporation	جهاز تقطيع الشرائح نسيجية Microtome
تايوان	MUV21-312	UV Transeilluminator
	MS Major Science, MINIS-300VS	Power Supply

الجدول (3-3) العدد المستخدمة في الدراسة الحالية .

الدولة المصنعة	الشركة	العدد
فرنسا	BioMerieux	API Staph
فرنسا	BioMerieux	API E20
كندا	BIO BASIC INC.	Ez- 10 spin column plasmid DNA mini preps)
الأردن	Expert	صبغة كرام
الولايات المتحدة الأمريكية	Biocheck	Human IgE EIA kit
	Remel	RapID ONE system E20 test
المملكة المتحدة	BioLabs	Master mix

الجدول (3-4) المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة الحالية .

الترميز	تركيز القرص (مايكرو غرام)	المضاد الحيوي	التسلسل
AK	10	Amikacin	.1
AM	25	Ampicillin	.2
AMC	30	Amoxillin/Clavulanic acid	.3
APX	30	Ampicillin/ Cloxacillin	.4
AX	25	Amoxillin	.5
AZM	15	Azithromycin	.6
C	10	Cloamphicol	.7
CAZ	10	Cefatazidime	.8
CFM	5	Cefixim	.9
CIP	10	Ciprofloxacin	.10
CN	10	Gentamicin	.11
CRO	10	Ceftriaxone	.12
CTX	10	Cefotaxime	.13
CX	10	Cloxacillin	.14
DA	10	Clindamycin	.15
DO	10	Doxycycline	.16
E	15	Erythromycin	.17
F	100	Nitrofuration	.18
IPM	10	Imipenem	.19
KF	30	Cephalothin	.20
L	10	Lincomycin	.21
ME	10	Methicillin	.22
MEM	10	Meropenem	.23
NA	30	Nalidixic Acid	.24
NOR	10	Norfloxacin.	.25
NV	30	Novobiocin	.26
OX	10	Oxacillin	.27
P	10 U	Penicillin	.28
PRL	30	Piperacillin	.29
PY	25	Carpencillin	.30
RA	5	Rifampin	.31
S	25	Streptomycin	.32
SXT	25(1.25/23.75)	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	.33
T	30	Oxytetracycline	.34
TE	10	Tetracycline	.35
TMP	10	Trimethoprim	.36
TOB	10	Tobramycin	.37
VA	10	Vancomycin	.38

4:1:3:البادئ Primer:-

البادئ المستخدم في الدراسة الحالية منتج من شركة The MIDLAND CERTIFIED REAGENT COMPANY INC.,USA إذ تم تدقيقه في الموقع الالكتروني لقاعدة البيانات لبنك الجينات Gen Bank Sequence Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) كما موضح في الجدول (3-5)

الجدول (3-5) تسلسل البادئ المستخدم للتحري عن جين *mrkA*.

اسم الجين	تسلسل القواعد النتروجينية للبادئ	المرجع
mrk A	mrk A F (5'-GCGGCGGTCAGGTAAATTC-3') mrk A R (5'-TCGCATAGCCGACGAGTAAG-3')	Allen <i>et al.</i> ,1991 Ong <i>et al.</i> ,2010 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/

2:3:طرائق العمل Methods:-

1:2:3:الزراع على الأوساط الأولية Culture on Primary Media:-

لقحت أوساط أكار الدم واکار الدم المسخن من الوسط الناقل (ایمز) مباشرة لكلا عینتي مسحة الأنف والجيب الأنفي وحضنت هوائيا وفي ظروف قليلة الأوكسجين بتوفير غاز ثاني أوكسيد الكربون وذلك بوضع شمعة في وعاء التحضين في درجة حرارة (37 °م) لمدة (24-48) ساعة .

كما لقحت على وسط اكار ماكونكي واکار سابروود- دكستروز أيضا وحضنت الاطباق هوائيا الأول في درجة حرارة (37 °م) لمدة (24) ساعة والثاني في درجة حرارة (37 °م) لمدة (3-5) أيام .

(Shikara,2009;Forbes *et al.*,2007; Winn *et al.*,2006;MacFaddin, 1985; Fingold and Martin,1982)

2:2:3:تشخيص العزلات Identification of isolates:-

درست الصفات المظهرية للمستعمرات كما حضرت شرائح من الجراثيم المعزولة وصبغت بصبغة كرام ثم فحصت تحت المجهر الضوئي.

3:2:3:الفحوصات الكيموحيوية Biochemical Tests :-

أجريت الاختبارات الآتية على الجراثيم المعزولة وهي :-

الكاتاليز ، الاوكسيداز،تحلل اليوريا ، تحلل الجلاتين، الاندول ،المثيل الأحمر ، فوكس بروس كور،استهلاك النترات والحركة (Brooks *et al.*,2010;Alexander and Strete ,2001).

4:2:3:تأكيد العزلات باستخدام RapID™ ONE System :-

يعتبر هذا النظام طريقة دقيقة نوعية حيث يستخدم مواد أساس تقليدية ومنتجة للصبغة لتشخيص أفراد العائلة المعوية المهمة طبيا والجراثيم السالبة لصبغة كرام المعزولة من عينات سريره .

تعتمد الاختبارات في هذا النظام على التحطم الجرثومي لمواد أساس معينة تكشف بوساطة نظام كواشف مختلفة إذ يستخدم تفاعلات مرتبطة باختبارات تقليدية .

1:4:2:3: تحضير المعلق الجرثومي Preparation of Inoculation :-

1-نميت الجرثومة المراد تشخيصها في مزرعة نقية وصبغت بصبغة كرام واجري لها اختبار الاوكسيداز وأكد تشخيصها باستخدام هذا النظام

2- حضر المعلق الجرثومي وذلك بأخذ حملة loop من مستعمرة مفردة نقية فتية من طبق الاكار المغذي النامية عليه ولقحت في أنبوب الـ RapID الحاوي على (2 مل) للحصول على عكورة تقارب عكورة أنبوب ماكفارلاند رقم (2) القياسية .

2:4:2:3:تلقح حجرات مسطرة الـ RapID™ :-

1- أزيل الغطاء من الحجرة فوق الجزء المخصص للتلقح بوساطة سحب الجزء المعلم (اسحب للتلقح) إلى الأعلى واليسار .

2- نقل جميع اللقاح المحضر أي أنبوب الـ RapID الحاوي على (2 مل) بوساطة ماصة إلى الزاوية العليا اليمنى للحجرة ثم أعيد غلق الجزء المخصص للتلقح وذلك بإعادة الغلاف إلى مكانه.

3- وضعت المسطرة بعد إضافة المعلق المراد اختباره على سطح مستوي وأرجعت إلى الخلف قليلا عن حجرات التفاعل بزاوية ميل (45°) .

4- رجت المسطرة من جانب إلى آخر لتوزيع اللقاح بالتساوي على طول القسم الخلفي وهي مائلة إلى الخلف .

5- أرجعت إلى الأمام ببطء مع الحفاظ على مستوى السائل الملقح أفقياً نحو حجرات التفاعل وافرغ القسم الخلفي من للمسطرة من السائل تماماً .

6- أعيدت المسطرة إلى الوضع الأفقي ثانية .

7- حضنت في درجة حرارة (37 م°) لمدة (4) ساعات .

3:4:2:3: تسجيل نقاط حجرات النظام Scoring of RapID™ ONE Panels :-

تحتوي مسطرة RapID™ ONE على (18) حجرة للتفاعل والتي تعطي (19) نتيجة اختبار إذ إن الحجرة الثامنة عشر ذات وظيفتين إذ تحتوي على اختبارين منفصلين في نفس الحجرة .

سجلت نتيجة الاختبار الأول في الحجرة (18) قبل إضافة الكاشف للحصول على نتيجة الاختبار الأول لهذه الحجرة بعد انتهاء فترة التحضين ثم سجلت نتيجة الاختبار الثاني لنفس الحجرة بعد إضافة الكاشف للحصول على نتيجة الاختبار الثاني .

تحتاج حجرات الاختبارات من (15 - 17) إلى كاشف RapID™ والذي صمم بصندوق مرسوم حول هذه الحجرات ،بينما الاختبار الثاني للحجرة (18) استخدم فيه كاشف الاندول المزود من الكت RapID Spot Indole أيضا رسم ADON مربع حول الاختبار الذي يحتاج إلى كاشف .

أضيفت الكواشف كالاتي :-

- 1- رفع الغطاء المعلم فوق الزاوية اليمنى السفلى للعروة إلى الأعلى وإلى اليسار .
- 2- أضيفت قطرتان من كاشف RapID™ ONE إلى الحجرات من الحجرة رقم 15 (PRO) إلى الحجرة رقم 17 (PYR) .
- 3- دونت نتائج الحجرات من الحجرة رقم 1 (URE) إلى الحجرة رقم (18) ابتداءً من جهة اليسار إلى اليمين باستخدام الجدولين (3-6) و (3-7) في الملحق .
- 4- أضيفت قطرتان من كاشف (RapID Spot Indole) إلى الحجرة 18 (ADON/IND).
- 5- قرأت النتائج بعد (20) ثانية من إضافة الكاشف أي بعد ظهور اللون القياسي.

6- قرأت نتيجة اختبار الحجرة 18 (IND) ودونت بعد ذلك في المربعات الموجودة في ورقة الاختبار المزودة من قبل الكت .

7- دونت النتائج الموجبة بعلامة (+) والسالبة بـ (-) ثم جمعت كل (3) اختبارات حيث إن لكل اختبار رقم معين فيظهر لنا رقم مكون من سبعة أرقام يسمى (Microcode) .

8- ادخل الرقم الناتج في RapID Code compendium or ERIC في برنامج على الحاسوب ودونت اسم العزلة التي أعطت تلك النتائج وصورت النتائج فوتوغرافياً .

5:2:3: نظام (API Staph) System of API Staph :-

يتكون النظام من شريط يحتوي على مواد أساس مجففة اختباريه في حجرات أو أنابيب صغيرة مفردة (Microtubes) .

اجري الاختبار بإضافة وسط من API Staph medium ملقح بالجرثومة المراد الكشف عنها إلى كل حجرة إلى إن امتلأت بالوسط بوساطة الماصة الدقيقة بهدوء ودقة تجنباً لتكوين فقاعات ثم حضن الشريط في درجة حرارة (37°م) لمدة (18 - 24) ساعة .

دونت النتائج بعد ذلك ثم فسرت باستخدام كتيب المعلومات ثم شخصت العزلات باستخدام API Staph Analytical Profile Index حيث اعتمد التشخيص على أساس تصنيف Kloos و Schleifer .

كذلك استخدم نظام API E20 لتشخيص العزلات السالبة لصبغة كرام والموجبة لأنزيم الاوكسيداز بنفس الطريقة السابقة.

6:2:3: التحري عن الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic Susceptibility Test :-

درس تأثير المضادات المختلفة على العزلات باستخدام طريقة انتشار القرص إذ حضر أكار مولر هنتون وبعد التعقيم والتبريد إلى (45°م) صب في أطباق بتري معقمة ثم لقح كل طبق بحجم

(0.1 سم³) من معلق العزلات المدروسة كثافته (1.5 × 10⁸ /CFU) سم³ يعادل أنبوب (5) من أنابيب مكفارلاند القياسية بوساطة طريقة التخطيط باستخدام ماسحة قطنية معقمة ثم وضعت المضادات

الحيوية المدروسة على الأطباق الملقحة خلال (15) دقيقة إذ وضع (7 أقراص / طبق) . حضنت الأطباق في درجة حرارة (37 °م) لمدة (24) ساعة ودونت النتائج في اليوم التالي إذ قيس أقطار منطقة التثبيط حول أقراص المضادات الحيوية باستخدام مسطرة رقمية الكترونية Electronic digital caliper وقورنت مع أقطار تثبيطية قياسية (CLSI,2014) .

7:2:3: قياس تركيز الكلوبولين المناعي نوع E في مصل المرضى قيد الدراسة Measurement of (IgE) Concentration in Serum of patient under Study

يعتمد الاختبار الكمي للكلوبولين المناعي نوع E (IgE) على طريقة الطور الصلب الادمصاص المناعي المرتبط بالإنزيم (Solid Phase Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay (ELISA) إذ تستخدم هذه الطريقة أضداد ضد الكلوبولين المناعي نوع E (IgE) أحادي النسيلة في محلول الارتباط الإنزيم - الضد Horse radish peroxidase حيث اجري الاختبار في مختبرات قسم علوم الحياة باستخدام جهاز Microplate washer (Costa et al.,2005) .

1:7:2:3: طريقة العمل Assay Procedure :-

- 1- حضرت الحفر في الحامل بنفس عدد العينات المختبرة .
- 2- وزع (20) مايكروليتر من كل من العينات , المحلول القياسي ومحلول السيطرة في كل حفرة .
- 3- وزع (100) مايكروليتر من محلول الدارئ رقم (0) في كل حفرة .
- 4- مزجت كل حفرة بعناية لمدة (30) ثانية لأن المزج مهم في هذه الخطوة .
- 5- حضن طبق الـ Micro titer في درجة حرارة الغرفة لمدة (30) دقيقة .
- 6- أزيل مزيج التحضين بوساطة قلب الطبق بحذر .
- 7- غسل الطبق بماء مقطر ثم قلب وطرق بالضغط بحذر (5) مرات.
- 8- قلب الطبق وطرق بقوة فوق ورق نشاف لإزالة قطرات الماء المتبقية .
- 9- وزع (150) مايكروليتر من كاشف الإنزيم المرتبط في كل حفرة ومزج بعناية لمدة (10) ثواني .
- 10- حضن طبق الـ Micro titer في درجة حرارة الغرفة لمدة (30) دقيقة .
- 11- أزيل مزيج التحضين بقلب محتويات الطبق في الغسل .

- 12- غسل الطبق بماء مقطر ثم قلب وضرب (5) مرات .
- 13- قلب الطبق وضرب بقوة فوق ورق نشاف لإزالة قطرات الماء المتبقية .
- 14- وزع (100) مايكروليتر من كاشف 3,3,5,5-Tetra Methyl Benzidine(TMB) في كل حفرة ومزج بعناية لمدة (10) ثوان حيث تغير لون الحفر إلى الأزرق.
- 15- حضن طبق الـ Micro titer في درجة حرارة الغرفة في الظلام لمدة (20) دقيقة .
- 16- أضيف (100) مايكروليتر من محلول إيقاف التفاعل (Stop solution) لكل حفرة لإيقاف التفاعل .
- 17- مزجت كل حفرة بعناية لمدة (30) ثانية, من المهم جدا التأكد بان جميع اللون الأزرق تحول إلى اللون الأصفر بصورة كاملة .
- 18- دونت شدة اللون عند طول موجي (450) نانوميتر بقارئ (Micro titer plate reader) خلال (15) دقيقة .

2:7:2:3 حساب تركيز الكلوبولين المناعي نوع E ورسم المنحى القياسي Calculation of IgE

-:Concentration and Draw the Standerd Curve

تم إيجاد تركيز الكلوبولين المناعي IgE بدلالة الامتصاصية من المعادلة التالية :-

$$X=158.8Y^2+ 47.90Y + 10.22$$

حيث يمثل (X) التركيز ويمثل (Y) الامتصاصية ثم رسم المنحى القياسي وكما مبين في الجدول (8-3).

الجدول (8-3) حساب التركيز بدلالة الامتصاصية

التركيز (X)	الامتصاصية (Y)	رقم العينة
249.13483	1.085	1
59.8108192	0.428	2
47.23727	0.355	6
231.03831	1.038	7
89.11712	0.570	9
63.932	0.45	10
137.48048	0.757	11
119.4104	0.692	12
81.517005	0.536	13
46.597219	0.351	14
372.44711	1.367	15
59.810819	0.428	16
658.31375	1.875	17
46.279099	0.349	18
68.206899	0.472	19
72.430881	0.493	20
205.74211	0.969	21
72.226563	0.493	22
1255.8887	2.654	23
44.08783	0.335	25
1406.2527	2.818	26
38.17007	0.295	27
164.3991	0.846	28
87.749245	0.564	29
390.103	1.403	30
107.18027	0.645	31
824.03693	2.118	32
131.21423	0.735	33
1385.5858	2.796	34
206.45405	0.971	35

8:2:3: تحضير مقاطع نسيجية من الزوائد الأنفية وصبغها بصبغتي الهيماتوكسلين أيوسين و كرام

النسيج Preparation of Tissue Section From Nasal Polyps and Staining with Hematoxylin-Eosin and Tissue Gram

حضرت مقاطع نسيجية من عينات الخزع النسيجية للزوائد الأنفية المأخوذة من المرضى قيد الدراسة إذ وضعت عينات النسيج بعد أخذها من المرضى في (Phosphate buffer saline) لحين الوصول إلى المختبر ثم بعد غسل العينات عدة مرات بنفس المحلول وحفظت في محلول (neutral buffer formalin) بتركيز (10%) وحفظت لعدة أشهر (Bancroft and Stevens, 1982) .

1:8:2:3: مراحل تحضير النسيج لصبغه بصبغة هيماتوكسلين- أيوسين للتحري عن الغشاء الحيوي

Preparation of Tissue for Hematoxylin-Eosin staining for Detection of Biofilm

1- سُحب الماء من النسيج باستعمال عدة تراكيز من محلول الكحول (70%, 80%, 90%, 100%) إذ يوضع النسيج في كل تركيز لمدة ساعة .

2- وضع النسيج في مادة الزايلول على ثلاث مراحل مدة ساعة لكل مرحلة .

3- حول النسيج إلى مرحلة الشمع (Wax) على مرحلتين لكل مرحلة ساعة .

4- حول النسيج إلى الصب (Blocking) .

5- قطع النسيج بجهاز Microtome بسمك (4) مايكرون .

6- أزيل الشمع في جهاز الفرن (Oven) على ثلاث مراحل بوساطة الزايلول الحار كل مرحلة لمدة (15) .

7- صبغ النسيج وذلك بوضعه في تراكيز تنازلية من الكحول (100%, 90%, 80%, 70%) مدة كل مرحلة دقيقتان ثم وضع النسيج في ماء الحنفية ثم حول النسيج وغمر في صبغة الـ (Hematoxylin) ثم غسل بالماء مرة أخرى ثم صبغ بصبغة الـ (Eosin) وغسل بالماء أيضا ثم وضع في الكحول على مرحلتين (5) ثواني لكل مرحلة .

8- جفف النسيج في الفرن (Oven) ثم غطي بمادة الـ Distyrene Plasticizer Xylene (DPX) ووضع غطاء الشريحة فوقه ثم فحص لرؤية النتيجة (Hochstim et al., 2010; Bancroft and Stevens, 1982) .

Preparation of Tissue for 2:8:2:3 مراحل تحضير النسيج لصبغه بصبغة كرام النسيج

-:Tissue Gram Staining

- 1- صببت نماذج بقوالب الشمع إذ تم تعبئة القالب المعدني بالشمع المنصهر وتم وضع قطع النسيج في القالب المعدني مباشرة قبل أن يجمد الشمع ووضع النسيج بمستوى أفقي واحد وذلك للحصول على مقاطع تحتوي على جميع قطع النسيج الموجودة في قالب الشمع عند تقطيعها بالمايكروتوم .
- 2- فصلت قوالب الشمع عن القوالب المعدنية بعد أن بردت وبذلك صارت جاهزة للتقطيع بجهاز المايكروتوم .
- 3- قطعت مكعبات الشمع الحاوية على النسيج بجهاز المايكروتوم إلى شرائح شمعية رقيقة جدا .
- 4- وضعت الشرائح الرقيقة في حمام مائي درجة حرارته (40°م) إلى أن تفتحت طيات الشرائح الشمعية الرقيقة وصارت مستقيمة.
- 5- التقطت كل شريحة شمعية بوساطة شريحة زجاجية.
- 6- وضعت الشرائح في فرن درجة حرارته (90°م) لمدة نصف ساعة .
- 7- وضعت في الزايلول إلى أن أذيب الشمع تقريبا لمدة (5) دقائق .
- 8- غمرت الشرائح بالكحول بتركيز مختلفة كالآتي :-
 - أ- وضعت في الكحول بتركيز (100%) لمدة (3-5) دقائق .
 - ب- وضعت في الكحول بتركيز (90%) لمدة (3-5) دقائق .
 - ت- وضعت في الكحول بتركيز (70%) لمدة (3-5) دقائق .
- ثم غسلت بالماء المقطر .
- 9- وضعت الشرائح على حامل للصبغة وصب فوقها (1) مللي لتر (20) قطرة من محلول بيكاربونات الصوديوم لمدة دقيقة واحدة .
- 10- غسلت الشرائح بماء الحنفية .
- 11- غمرت الشرائح في محلول ايوديد كرام لمدة دقيقة واحدة .
- 12- غسلت الشرائح بالماء وجففت باستخدام ورق ترشيح .
- 13- أزيل اللون باستخدام محلول ايثر - اثيل - استون وأضيف على الشرائح حتى توقف ظهور اللون الأزرق من الشريحة .

- 14- غمرت الشرائح في محلول الفوكسين القاعدي لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء وجففت بصورة تامة.
- 15- غطست الشرائح بالأستون لبدء تفاعل التفريق .
- 16- غمرت الشرائح مباشرة بمحلول حامض البريك- الأستون إلى أن أصبحت المقاطع وردية .
- 17- غسلت الشرائح بسرعة في محلول الأسيتون ومن ثم غسلت في محلول الأستون - زايلين .
- 18- تم الترويق في محلول الزايلين عدة مرات بواقع دقيقتان لكل مرة .
- 19- غطي النسيج بمادة الـ (DPX) ووضع غطاء الشريحة فوقه ثم فحص لرؤية النتيجة (Luna,1968) .

9:2:3: البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية بواسطة النوعين (*Escherichia coli* و *Proteus mirabilis*) Biosynthesis of silver nanoparticles by *Escherichia coli* and (*mirabilis*) *Proteus mirabilis* :-

- 1- نمي كلا النوعين في دورق مخروطي حاوي على (5) مللي لتر من وسط مرق لوريا برتاني (Luria bretani LB) بدون إضافة ملح الطعام كلاً على حدى وحضر مكرر لكل نوع ثم حضن في حاضنة هزازة في درجة حرارة (37 °م) لمدة (24) ساعة .
- 2- أضيف (50) سم³ من محلول نترات الفضة (AgNO₃) بتركيز (5 مايكرو مول/ سم³) للدورق الحاوي على *E. coli* والدورق الحاوي على *Prot. mirabilis* كما أضيف (50) سم³ من محلول نترات الفضة بتركيز (3 مايكرو مول/ سم³) للمكررين من كل عزلة .
- 3- حضنت الدوارق في حاضنة هزازة في الظلام في درجة حرارة (37 °م) لمدة (5) أيام.
- 4- فصلت دقائق الفضة النانوية المتكونة خارج الخلية (Extracellular AgNO₃) عن الخلايا البكتيرية بواسطة جهاز الطرد المركزي للمزرعة السائلة عند (3000) دورة/ دقيقة لمدة (6) دقائق عند (25 °م) وحفظ الراشح في الثلاجة لحين إجراء التحليلات عليها .
- 5- حلت دقائق الفضة النانوية المكونة من قبل *E. coli* و *Prot. mirabilis* بجهاز الـ Fourier Transmission Infrared Spectroscopy (FTIR) لتأكيد وجود الدقائق وجهاز محلل زيتا (Zeta Analyzer) في الجامعة الاردنية لتحديد حجم الدقائق النانوية المتكونة وجهد زيتا .

6- قدرت الفعالية التثبيطية لمحلول دقائق الفضة النانوية ضد عينات الجراثيم المعزولة من المرضى قيد الدراسة بتركيز (5 مايكرو مول/ مللي لتر) و (3 مايكرو مول/ مللي لتر) حيث أضيف (0.01) مل من كل تركيز إلى قرص من ورق ترشيح معقم بقطر (6 مللي متر) ودرست القدرة التثبيطية للمحلول بطريقة انتشار القرص. (Al-Kwas, 2013; Shivakrishna *et al.*, 2013; Manonmani and Juliet, 2011; Saifuddin *et al.*, 2009)

10:2:3: التحري عن دقائق الفضة النانوية بواسطة تحليل جهد زيتا وحجم الدقائق النانوية المتكونة

Detection of silver *Proteus mirabilis* و *Escherichia coli* من قبل جرثومتي nanoparticles by Particle Size and Potential Analysis :-

تم قياس قطر وحجم دقائق الفضة النانوية للعينات باستخدام Zetasizer من شركة Nano-ZS Microtrac الألمانية في الجامعة الاردنية إذ أنجزت القياسات عند (25 ° م) بزاوية (90 °) وحدد جهد زيتا للعينات المختبرة بواسطة Laser Doppler electrophoresis إذ كررت القياسات 3 مرات وأجريت القياسات على العينات بدون أي معاملة (Drzewiecka *et al.*, 2014).

11:2:3: عزل البلازميد Plasmid isolation :-

تم استخلاص البلازميد الموجود في الأنواع الجرثومية المعزولة قيد الدراسة باستخدام كت (Ez- 10 spin column plasmid DNA mini preps) المجهاز من شركة BIO BASIC INC. كالاتي :-

1- نمت الأنواع الجرثومية المراد استخلاص البلازميد منها في وسط مرق Trypcase soy broth في درجة حرارة (37 ° م) لمدة (24) ساعة .

2- أضيف (1.5-5) مللي لتر من المزرعة إلى أنبوب ابندروف ووضعت بجار الطرد المركزي الدقيق عند (12000) دورة / دقيقة لمدة دقيقتان وتم التخلص من الراشح .

3- أضيف (100) مايكروليتر من محلول رقم (1) إلى الراشب ومزج جيدا ثم ترك لمدة دقيقة واحدة .

4- أضيف (200) مايكروليتر من محلول رقم (2) إلى المزيج السابق ومزج جيدا وذلك بقلب الأنبوبة (4- 6) مرات ثم ترك في درجة حرارة الغرفة لمدة دقيقة واحدة .

5- أضيف (350) مايكروليتر من محلول رقم (3) ومزج بعناية وحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة دقيقة واحدة .

6- وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي عند (12000) دورة / دقيقة لمدة (5) دقائق .

7- نقل المحلول إلى عمود (EZ- 10) ووضع في جهاز الطرد المركزي عند (10000) دورة / دقيقة لمدة دقيقتين .

8- تم التخلص من المحلول المتجمع في الأنبوب .

9- أضيف (750) مايكروليتر من محلول الغسل إلى العمود ووضع في جهاز الطرد المركزي عند (10000) دورة / دقيقة لمدة دقيقتان ثم كررت هذه الخطوة .

10- تم التخلص من المحلول المتجمع في الأنبوبة وتم وضعها في جهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة إضافية لإزالة أي محلول غسل متبقي .

11- نقل العمود إلى أنبوب ابندروف بسعة (1.5) مللي لتر وأضيف (50) مايكروليتر من دارئ الاستخلاص Elution buffer إلى مركز العمود وحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة دقيقتين .

12- وضعت الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي عند (10000) دورة / دقيقة لمدة دقيقتين .

13- قيسست نقاوة DNA بجهاز الـ Nanodrop في مختبرات قسم علوم الحياة .

14- حفظ DNA المنقى في درجة حرارة -20 °م

12:2:3:تحضير مزيج محلول تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) للكشف عن جين (mrkA gene)

:- Polymerase Chain Reaction (PCR) mixture for genes detection

حضر مزيج التفاعل حسب ما جاء في توصيات عدة (Quick-Load Taq 2X Master Mix) .

كالآتي :-

- (12.5) مايكروليتر من (Master mix) .
- (4.5) مايكروليتر من (Distiled water) .
- (1) مايكروليتر من البادئ الأمامي (Forward Primer) .
- (1) مايكروليتر من البادئ الخلفي (Reverse Primer) .
- (6) مايكروليتر من مستخلص الحامض النووي منقوص الأوكسجين (Extracted DNA) .

13:2:3: الكشف عن جين (mrkA gene) من عزلات الجراثيم السالبة لصبغة كرام

-: mrkA gene in Some Gram Negative Bacteria

تم الكشف عن هذا الجين كما ورد من قبل كل من (Ong et al.,2010; Burmølle et al.,2008; Ong et al.,2008). اجري تفاعل تضخيم البلازميد كما موضح في الجدول (3-8) .

الجدول (3-9) برنامج تفاعل تضخيم البلازميد

المسخ الأولي		35 دورة								الامتداد النهائي		التبريد	
		المسخ		الالتزاق		الامتداد							
درجة الحرارة	الوقت	درجة الحرارة	الوقت	درجة الحرارة	الوقت	درجة الحرارة	الوقت	درجة الحرارة	الوقت	درجة الحرارة	الوقت	درجة الحرارة	الوقت
94 °م	3	94 °م	45	54 °م	1	72 °م	1	72 °م	7	4 °م	2	الحرارة	د.

1:13:2:3:الترجيل الكهربائي باستخدام جل الاكاروز Agarose Gel Electrophoresis:-

- 1- حضر جل الاكاروز بإذابة (1)غم من الاكاروز في (50) مل من دارئ Tris Borate EDTA(TBE) بتركيز (1 X) الدالة الحامضية له 7.8 في دورق مخروطي إذ سخن مع التحريك المستمر بواسطة محرك مغناطيسي ساخن (Hot magnetic stirrer) إلى أن أذيب جميع مسحوق الاكاروز تم تبريده إلى درجة 50 °م وصب بلطف بعناية في الصينية المزودة بأمشاط وسدادات ثم تركت في درجة الغرفة لمدة 30 دقيقة حتى تصلب الاكاروز.
- 2- أزيل المشط والسدادات من الجانبين بعناية ووضع بصورة أفقية في الخزان ثم صب (300) مللي لتر من دارئ (TBE) بتركيز (1 X) في الخزان إلى أن غطي جل الاكاروز بالكامل.

3- أضيف (5) مايكروليتر من ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR Product) وحمل داخل حفر جل الاكاروز ابتداء من ثاني حفرة ثم أضيف (8) مايكروليتر من (Ladder) إلى أول حفرة .

4- ضبط التيار الكهربائي على فولتية (50) فولت لمدة (75) دقيقة .

5- اخذ الجيل بعناية بعد انتهاء المدة وغمر في خزان ملئ بالاثيديوم برومايد (Ethidium Bromide) بتركيز (0.5µ/ml) لمدة (45) دقيقة .

6- استخدم جهاز Trans-illuminator عند (320 – 336) نانوميتر لملاحظة حزم نواتج البلمرة المتسلسل (PCR Product) وصور الجل باستخدام آلة التصوير (شركة كانون) .

2:13:2:3:تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية للجين (mrkA gene) في عزلات الجراثيم التي ظهر

Determination of Gene sequencing in isolates which have this الجين
-:gene

حددت التتابعات الوراثية لجين *mrk A gene* في (4) عزلات وذلك بتحديد تتابع النيوكليوتيدات للشريط العلوي باتجاه 5' الى 3' وباستخدام البادئ الأمامي لكل قطعة جينية مضاعفة وبتكرير (10) بيكومول وأرسلت نتائج تفاعل البلمرة وبحجم (20) مايكروليتر الى شركة ماكروجين في الولايات المتحدة الأمريكية (Microgen Laboratory/USA in both directions using an ABI 3730 XL DNA Analyzer) تم التحري عن التطابق الجيني باستخدام برنامج Basic Local Alignment Search Tool(BLAST) والمتوفر في المركز الوطني لمعلومات التقانات الحياتية (National Center Biotechnology Information(NCBI) وعلى الموقع (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) تم ترجمة النيوكليوتيدات لجين *mrkA* إلى أحماض أمينية باستخدام نفس البرنامج .

3:3 التحليل الإحصائي :-

أجريت التحليلات الإحصائية باستخدام اختبار مربع كاي Chi-Square test لتحليل النتائج إذ تم تحليل النتائج عند مستوى احتمال (0.05) فقط (الراوي, 1979) .

النتائج والمناقشة

Results
and
Discussion

4:النتائج والمناقشة -:Results and Discussion

1:العزل -:Isolation

عزلت أنواع مختلفة من الجراثيم من المرضى قيد الدراسة وفي كلا الجنسين حيث يوضح الجدول (1-4) نتيجة العزل الموجبة والسالبة اذ اعطت (28.57%) نتيجة موجبة بالنسبة للذكور اما بالنسبة للإناث فقد بلغت (31.43%) ، كما يبين الجدول (2-4) أن أعلى نسبة كانت للنوع *E.coli* في الإناث وبلغت (15%) بينما كانت أعلى نسبة في الذكور للنوع *Kleb.pneumoniae* إذ بلغت (13.3%) كما عزلت أيضا الأنواع *Citro. freundii* ، *Moraxella spp.* ، *Ser. marcescens* ، *Staph. capitis* ، *Staph. lugdunensis* ، *Staph. saprophyticus* و *Staph. sciuri* بنسبة (6.7%) في الذكور أما في الإناث فقد عزلت الأنواع الآتية :

Prot. mirabilis ، *Entero. cloaceae* ، *Entero. aerogenes* ، *Acinetobacter lwoffii* ، *Staph. warneri* ، *Staph. hominis* ، *Staph. epidermidis* ، *Ser. marcescens* ، *Staph. xylosum* بنسبة (5%) .

الجدول (1-4) النسبة المئوية للعزل في كلا الجنسين قيد الدراسة.

العزلات السالبة	العزلات الموجبة	العزل	
		الذكور	الإناث
5(14.29)	10(28.57)	No.15 (%)42.86	N.20 (%)57.14
9(25.71)	11(31.43)		
14(40)	21(60)	N.35 (%)100	المجموع الكلي

No. = العدد الكلي

(%) = النسبة المئوية

توضح الصور (1-4) نتائج الاختبارات الكيموحيوية باستخدام نظام RapID™ ONE للأنواع الجرثومية المعزولة والسالبة لصبغة كرام و اختبار الاوكسديز ، كما توضح الصور (2-4) الاختبارات الكيموحيوية للجراثيم السالبة لصبغة كرام والموجبة لاختبار

الاوكسديز وتوضح الصور (3-4) الاختبارات الكيموحيوية للمكورات العنقودية المعزولة الموجبة لصبغة كرام باستخدام API staph .

الجدول (2-4) النسب المئوية للأنواع الجرثومية المعزولة من كلا الجنسين قيد الدراسة .

النسبة الكلية	الإناث	الذكور	العزلات الجرثومية
No.(%)			
1(2.8)	1(5)	0(0)	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
1(2.8)	0(0)	1(6.6)	<i>Citrobacter freundii</i>
1(2.8)	1(5)	0(0)	<i>Enterobacter aerogenes</i>
1(2.8)	1(5)	0(0)	<i>Enterobacter cloacae</i>
3(8.57)	3(15)	0(0)	<i>Escherichia coli</i>
2(5.7)	0(0)	2(13.3)	<i>Klebsiella pneumonia</i>
1(2.8)	0(0)	1(6.6)	<i>Moraxella spp.</i>
1(2.8)	1(5)	0(0)	<i>Proteus mirabilis</i>
2(5.7)	1(5)	1(6.7)	<i>Serratia marcescens</i>
1(2.8)	0(0)	1(6.7)	<i>Staphylococcus capitis</i>
1(2.8)	1(5)	0(0)	<i>Staph.epidermidis</i>
1(2.8)	1(5)	0(0)	<i>Staph.hominis</i>
1(2.8)	0(0)	1(6.7)	<i>Staph.lugdunensis</i>
1(2.8)	0(0)	1(6.7)	<i>Staph.saprophyticus</i>
1(2.8)	0(0)	1(6.7)	<i>Staph.sciuri</i>
1(2.8)	1(5)	0(0)	<i>Staph.warneri</i>
1(2.8)	1(5)	0(0)	<i>Staph.xylosus</i>
14(40)	8(40)	6(40)	بدون نمو
35(100)	20(57.14)	15(42.86)	العدد الكلي (%)

أكد الباحثان Udayasri و Radhakumari (2016) أن الجراثيم لها دور مهم في التهاب الجيوب الانفية المزمن وتم عزل جرثومة *Staph.aureus* بنسبة (43.92%) ، المكورات السالبة لإنزيم

الستجاط (%24.29) *Str.pyogenes*، (%2.8) *Kleb.pneumoniae* ، (%9.34) *E.coli* ، (%7.47) *Citro. freundii* (%1.87) في حين تم عزل جرثومة *Staph.aureus* بنسبة (%17.5) ، *Staph.epidermidis* (%14.1) *E.coli*، (%1.7) *M.catarrhalis* (%10) ، *Prot. mirabilis* (%3.3) و *Kleb.pneumoniae* (%2.5) من قبل الباحث Jreemich (2015) .

أشار الباحث Kamath وآخرون (2013) إلى دور الجراثيم في التهاب الجيوب الانفية المزمن إذ ذكر أن نسبة جرثومة *Staph.aureus* كانت (%43) *Kleb.pneumoniae* (%9) و *Citrobacter spp.* (%1) ولم يعزل أي جراثيم لاهوائية وذكر الباحث Pandak وآخرون (2011) أن دور الجراثيم في التهاب الجيوب الأنفية المزمن غير معروف لحد الآن ويعتمد تفاقم الالتهاب الناجم عن تلك الجراثيم على الاستخدام الشائع للمضادات واسعة الطيف ، ضعف التهوية للجيوب الأنفية وقلّة النضوح في معقد OMC(Osteo Meatal Complex) كما لاحظ دور *Staph.aureus* وجراثيم العائلة المعوية والأنواع اللاهوائية في تفاقم الالتهاب حيث عزل النوع *E.coli* ، *Kleb.pneumoniae* و *Prot. mirabilis* بنسبة (%6.67) لكل نوع ولاحظ وجود جراثيم في (%96) من العينات المأخوذة ، ويعزى ذلك الى تواجد الجراثيم في تلك المناطق من الجسم حيث أن *Staph.epidermidis* هي من الأنواع التي تستعمر جسم الإنسان ومنها فتحة الفم ، فتحة الأنف وفتحة الجيوب مرتبطة تشريحيا وربما تصعد الجراثيم من الفم خلال المجرى الوسطي الواقع تحت الزعنفة الوسطية *middle turbinate* إلى الجيب الفكي والغريالي وتستعمر الطبقة المخاطية للجيوب (Zurak et al.,2009) .

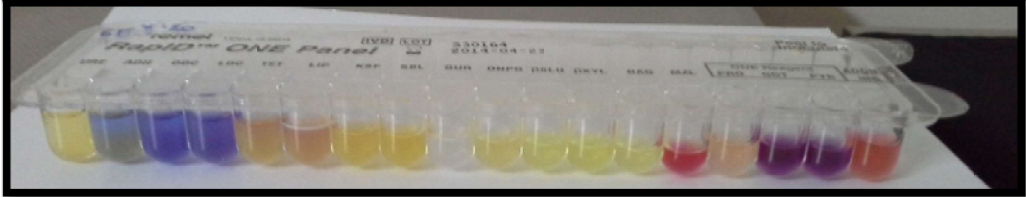
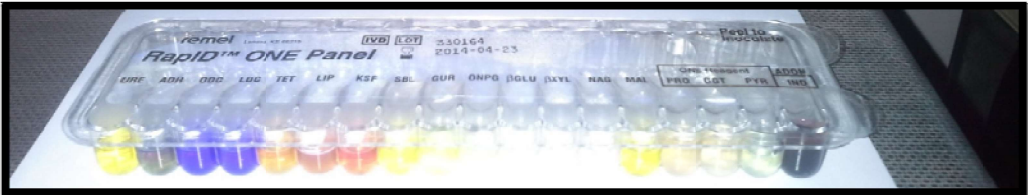
ذكر الباحث Desrosiers وآخرون (2011) إن الـ *Staph.aureus* ، جراثيم العائلة المعوية و *Pseudomonas* هي من الممرضات الرئيسة المعزولة من التهاب الجيوب المزمن والأقل شيوعا *Strept. pneumoniae* ، *H. influenzae* و *betahemolytic strept.* واعتقد الباحث أن *Staph. coagulase negative* هي من الجراثيم الممرضة التي عزلت بأعداد كبيرة إذ لوحظ وجودها مع كريات الدم العذلة في العينات النسيجية المصبوغة بصبغة كرام النسيج و لوحظت في (%50) من العينات . كما أشار الباحث Payne وآخرون (2011) أن التهاب الجيوب المزمن مرتبط بوجود الجراثيم اللاهوائية السالبة لصبغة كرام و

Staph.aureus وأنواع أخرى حيث أن في حالة التهاب الجيوب الأنفية المزمن تفقد هذه الجيوب الحواجز المناعية التي تحميها من الجراثيم وبذلك تصبح عرضة لغزو أنواع عديدة من الجراثيم.

أشار الباحث Hamilos (2011) إلى الدور المهم لمعقد OMC حيث أن انسداده يمنع التهوية الصحيحة وعملية النضوح لإفرازات الجيوب الأنفية مما يؤدي إلى تكوين بيئة مناسبة لنمو الجراثيم وإحداث الالتهاب.

ذكر الباحث Nigro وآخرون (2006) إذ ذكر أن نسبة النوع *Staph.epidermidis* كانت (3.84%) أما النوعين *Entero. aerogenes* و *Entero. cloaceae* (5.76%) ، (3.84%) على التوالي . كانت نسبة الأنواع *E.coli* ، *Kleb.pneumoniae* و *Prot. mirabilis* (1.92%) لكل نوع و نسبة النوع *Ser. marcescens* (5.76%) كما أشار إلى أن جميع المرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن لم يستجيبوا للعلاج بالمضادات الحيوية المختلفة ولهذا خضعوا لعملية التنظير الأنفي FESS .

أوضح الباحث Rombaux وآخرون (2005) إذ ذكر أن نسبة عزل جرثومة *E.coli* كانت (6.3%) ، *Entero. aerogenes* (1.2%) ، *Entero. cloaceae* (2.4%) ، *Kleb.pneumoniae* و *Citro. freundii* (2.1%) ، *Prot. mirabilis* (5.1%) و *Ser. marcescens* (1.8%) .

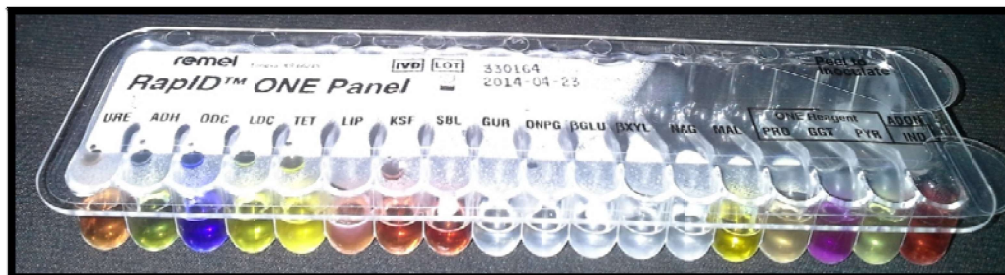
	أ
	ب
	ج
	د
	هـ



و



ز



ح



ط



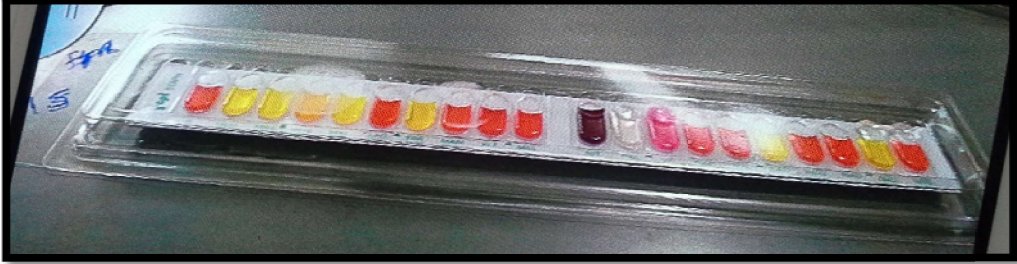
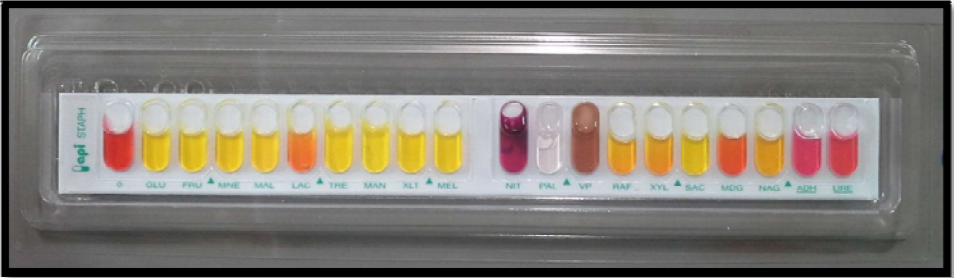
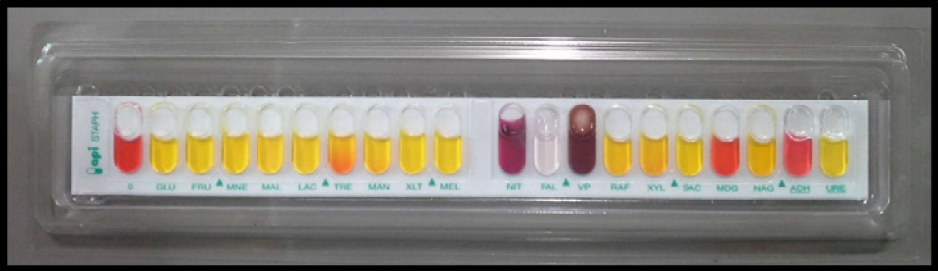
ي

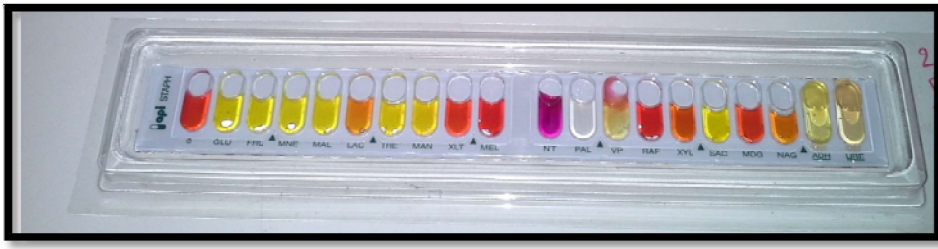


1



الصورة (2-4) الاختبارات الكيموحيوية باستخدام نظام API E20 للجراثيم السالبة لصبغة كرام وموجبة لاختبار الاوكسيدز أ- *Moraxella spp.* ب- *Acinetobacter lwoffii*.

	أ
	ب.
	ج
	د هـ و

	<p>ز</p>
	<p>ح</p>
<p>الصور (3-4) الاختبارات الكيموحيوية باستخدام نظام API staph لجراثيم المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام أ- <i>Staph. lugdunensis</i> ب- <i>Staph. hominis</i> ج- <i>Staph. epidermidis</i> د- <i>Staph. saprophyticus</i> هـ- <i>Staph. xylosus</i> و- <i>Staph. sciuri</i> ز- <i>Staph. capitis</i> ح- <i>Staph. warneri</i></p>	

2:4 اختبار الحساسية للمضادات الحيوية المختلفة Susceptibility Test for

-: Different Antibiotics

استخدمت مضادات حيوية شائعة وغير شائعة الاستعمال للتعرف على استجابة الأنواع المعزولة للمضادات الحيوية ونسبة الحساسية لها حيث استخدم (38) مضادا حيويًا ، إذ أن العلاج بالمضادات الحيوية يجب أن يكون منظما وليس بصورة عشوائية لكي تكون فرصة الشفاء كبيرة ونسبة حدوث الطفرات المقاومة للمضادات الحيوية اقل ما يكون ولتحقيق هذا الغرض يجب أولا تحديد أي مضاد حيوي يؤثر على الجرثومة المسببة للمرض وهذا يتم عن طريق عزل الجرثومة ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية وخاصة في الطور الحاد من التهاب الجيوب الأنفية وتحديد أي مضاد حيوي يؤثر عليها ثم يعطى العلاج بعد ذلك لتجنب

فشل العلاج وتحول المرض إلى الطور المزمن والذي يتطلب تدخل جراحي وإجراء التنظير الأنفي لان في هذه المرحلة لا يستجيب المريض للعلاج بالمضادات الحيوية .

يبين الجدول (3-4) النسب المئوية لاختبار الحساسية لعدد من المضادات الحيوية ، لوحظ أن جميع الأنواع الجرثومية المعزولة كانت حساسة للمضادين CIP_{10} و NOR_{10} و يعود هذان المضادان إلى مجموعة Quinolones الحاوية على أربع حلقات Quinolone تعمل على تثبيط فعالية أنزيم الـ DNAgyrase في الجراثيم إذ يرتبط المضاد مع معقد الأنزيم ويفك ارتباط سلسلتي الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA ويعزى هذا التأثير القوي لهذا المضاد إلى كونه من المضادات قليلة انتشار سلالته المقاومة (Bennett and Brown ,2008; Hooper,2000) .

يأتي بعدهما المضادان Imipenem و Gentamicin ، إذ يعود الأول إلى مجموعة aminoglycoside و يرتبط هذا المضاد بالوحدة الصغيرة 30S من الرايبوسوم في الكائنات بدائية النواة و يتداخل مع بناء البروتين أما المضاد الثاني فهو من مجموعة الـ β -lactam العالية المقاومة لأنزيم β -lactamase المنتج من قبل الجراثيم الموجبة و السالبة لصبغة كرام المقاومة للمضادات الحيوية المتعددة ويلعب هذا المضاد دوراً كبيراً في علاج الإصابات التي لا تعالج بالمضادات الأخرى وذلك بتثبيطه بناء الجدار الخلوي للجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام وأثرت المضادات CFM_5 ، CAZ_{10} ، CX_{10} ، KF_{30} ، CTX_{10} على العزلات الجرثومية بنسب مختلفة .

كانت جميع العزلات مقاومة للـ AM_{25} ، AMC_{30} ، APX_{30} ، AX_{25} ، P_{10U} و PY_{25} وذلك لان جميع هذه المضادات تعود إلى مجموعة البنسلينات حيث أن الجراثيم المعزولة يبدو أنها تنتج إنزيم β -lactamase والذي يشبط حلقة الـ β -lactam الموجودة ضمن تركيب هذه المضادات .

كما أن جميع العزلات كانت مقاومة أيضا للمضاد MEM_{10} وهو من مجموعة Carbapenem ويرتبط بـ (PBP(Penicillin Binding Protein) كما ذكر الباحثان Sinha و Srinivasa (2007) إن سبب المقاومة يعود إلى إنتاج β -lactamase AmpC هو إنزيم مهم جدا يحطم السفالوسبورينات مشفر على كروموسوم العديد من جراثيم العائلة المعوية والجراثيم الأخرى لذا تقاوم

الجراثيم Cephalothin ، Cefazoiln ، Cefoxitin ومعظم البنسلينات (Jacoby,2009). كانت جميع العزلات مقاومة للـ E₁₅ ربما لطفرة في 23SrRNA أو البروتينات الرايبوسومية (Varaldo et al.,2009).

يعد Amoxicillin/ Clavulanate شائع الاستخدام في العديد من الدول كما يستخدم في علاج التهاب الجيوب الجرثومي المنتجة للـ β -lactamase مثل *Staph.aureus*، *E.coli* و *H. influenzae* (White et al.,2004).

وجد الباحث Sethuraman وآخرون (2011) أن 100% من عزلات *Ser. marcescens* حساسة للـ Ciproflox وهذا ما وجدناه في دراستنا أيضا .

وجد الباحث Oteo وآخرون (2008) أن (30.6%) من *E.coli* المعزولة من عينات الدم كانت مقاومة للـ AMC وهذا ما أكدته دراستنا إذ أن العزلات الثلاث للـ *E.coli* كانت مقاومة له.

الجدول (3-4) حساسية ومقاومة الجراثيم المعزولة للمضادات الحيوية المختلفة قيد الدراسة .

CI P	CFM	CAZ	C	AZM	AX	APX	AM C	AM	AK	المضادات الأنواع المعزولة
0	100	100	0	0	100	100	100	100	0	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
0	100	100	0	MS	100	100	100	100	0	<i>Citrobacter freundii</i>
0	100	100	0	MS	100	100	100	100	100	<i>Enterobacter aerogenes</i>
0	100	MS	S(66.7) R(33.3)	MS	100	100	100	100	0	<i>Enterobacter cloacae</i>
0	S,MS,R(33.33)	R(66.7) MS (33.3)	S(66.7) R(33.3)	MS (66.7) S(33.3)	100	100	100	100	0	<i>Escherichia coli</i>
0	MS	MS	0	MS	100	100	100	100	0	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
0	100	100	100	MS	100	100	100	100	0	<i>Moraxella spp.</i>
0	0	MS	100	MS (50) R(50)	100	100	100	100	0	<i>Proteus mirabilis</i>
0	S(50) R(50)	100	MS(50) R(50)	MS	100	100	100	100	50	<i>Serratia marcescens</i>
0	100	100	0	100	100	100	100	100	MS	<i>Staphylococcus capitis</i>
0	100	100	100	100	100	100	100	100	0	<i>Staph.epidermidis</i>
0	100	100	MS	0	100	100	100	100	MS	<i>Staph.hominis</i>
0	100	100	100	0	100	100	100	100	0	<i>Staph.lugdunensis</i>
0	100	100	MS	100	100	100	100	100	MS	<i>Staph.saprophyticus</i>
0	100	100	MS	100	100	100	100	100	MS	<i>Staph.sciuri</i>
0	100	100	MS	100	100	100	100	100	MS	<i>Staph.warneri</i>
0	100	100	MS	MS	100	100	100	100	MS	<i>Staph.xyloso</i>

Sensitive =0,Resistant =100, Moderate Sensitive =MS,Sensitive=S,Resistant=R

NA	MEM	ME	L	KF	IPM	F	E	DO	DA	CX	CTX	CRO	CN
0	100	100	100	100	0	100	100	0	100	100	100	100	0
100	100	100	100	100	0	100	100	0	100	100	100	100	0
MS	100	100	100	100	100	100	100	MS	100	100	100	100	0
0	100	100	100	100	MS	100	100	100	100	100	100	MS	0
S(33.3) R(66.7)	100	MS (33.3) R(66.7)	100	100	0	S(33.3) R(66.7)	100	MS (33.3) R(66.7)	100	100	100	MS(66.7) R(33.3)	S(66.7) R(33.3)
0	100	100	100	100	S(50) MS (50)	100	100	S(50) MS (50)	100	100	MS (50) R(50)	MS	0
0	100	100	100	100	0	100	100	0	100	100	100	100	0
MS	100	100	100	100	0	100	100	100	100	100	100	0	0
0	100	S(50) R(50)	100	100	S(50) R(50)	100	100	100	100	100	100	MS	0
100	100	MS (33.3) R(66.7)	100	100	0	0	100	0	0	0	100	100	100
MS	100	100	100	100	0	100	100	0	100	100	100	100	0
100	100	100	100	100	0	100	100	100	0	100	100	100	0
100	100	0	0	0	0	0	100	0	0	100	100	100	0
100	100	MS	100	100	0	MS	100	0	0	0	100	100	0
100	100	0	100	100	0	100	100	0	0	0	100	100	0
100	100	I	100	100	0	MS	100	0	0	100	100	100	0

Sensitive =0,Resistant =100, Moderate Sensitive =MS, Sensitive=S,Resistant=R

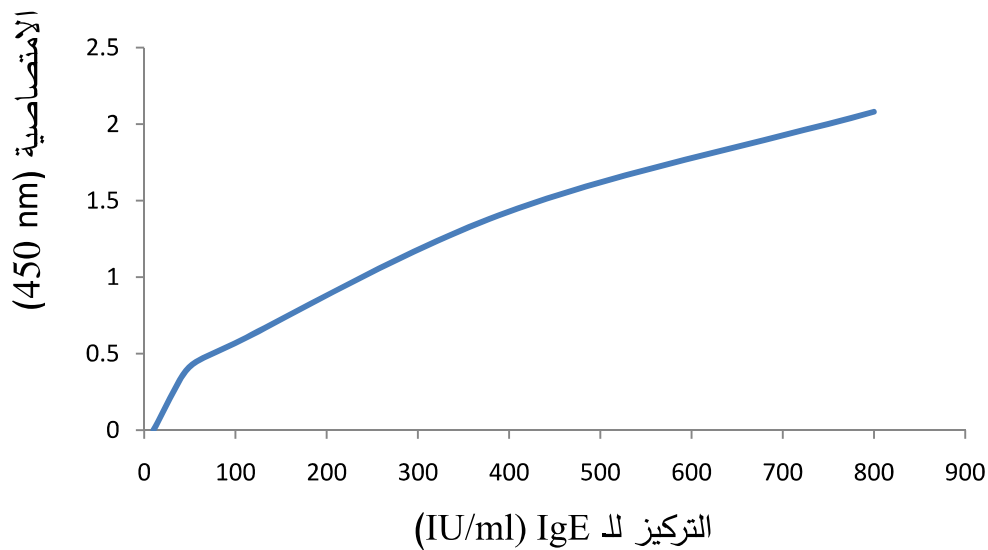
VA	TOB	TMP	TE	T	SXT	S	RA	PPL	PY	P	OX	NV	NOR
100	0	100	100	100	MS	0	100	0	100	100	100	100	0
100	MS	0	100	MS	0	0	100	100	100	100	100	100	0
100	0	0	100	MS	0	MS	100	MS	100	100	100	100	0
100	100	0	100	100	0	0	100	100	100	100	100	100	0
100	S (33.3) MS(33.3) R (33.3)	S(33.3) R(66.7)	100	100	S(33.3) R(66.7)	MS(33.3) R(66.7)	100	MS(33.3) R(66.7)	100	100	MS(33.3) R(66.7)	100	0
100	MS(50) R(50)	0	100	100	0	S(50) MS(50)	100	S(50) R(50)	100	100	100	100	0
100	0	100	100	100	100	0	100	0	100	100	100	100	0
100	0	100	100	100	MS	0	100	0	100	100	100	MS	0
0	0	MS	MS	0	0	MS(50) R(50)	100	S(50) MS(50)	100	100	100	100	0
0	MS	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	MS	100	100	100	0	0
0	0	0	MS	0	100	0	100	100	100	100	100	100	0
0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0	0	0
0	0	0	0	0	0	MS	0	100	100	100	0	0	0
0	0	0	0	0	0	MS	0	100	100	100	0	0	0
0	0	0	0	0	0	MS	0	100	100	100	0	0	0
0	0	0	0	0	0	MS	0	100	100	100	0	0	0
0	0	0	0	0	0	MS	0	100	100	100	0	0	MS

Sensitive =0,Resistant =100, Moderate Sensitive =MS,Sensitive=S,Resistant=R

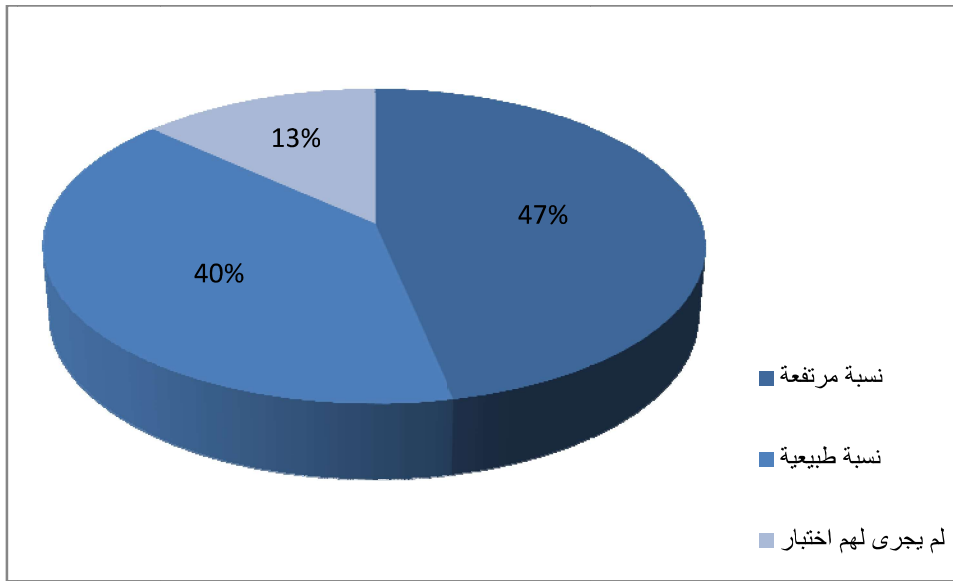
3:4 اختبار قياس الكلوبيولين المناعي IgE في مصل المرضى قيد الدراسة ونسبة الحساسية (الشري، الربو والعطاس) :-

تم قياس نسبة IgE في عينات المصل المأخوذة من مرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن قبل إجراء عملية التنظير الأنفي لهم وتم إيجاد تركيز IgE .

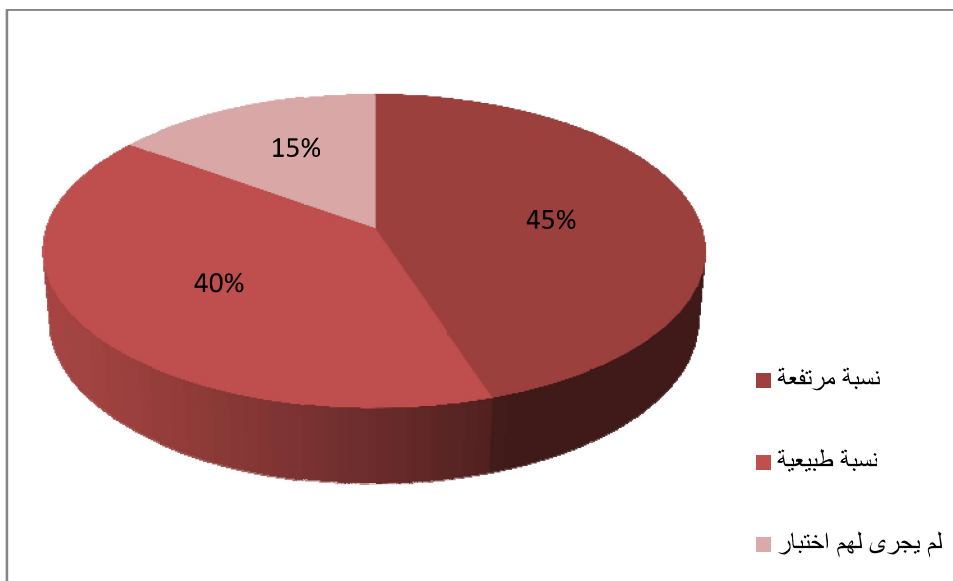
يبين الشكل (1-4) المنحنى القياسي لإيجاد التركيز بدلالة الامتصاصية كما يبين الشكل (2-4 أ) أن (47%) من الذكور كانت نسبة IgE لديهم مرتفعة (فوق الطبيعي) أما النسبة الطبيعية لديهم بلغت (40%) ويوضح الشكل (2-4 ب) أن (45%) من الإناث كانت نسبة IgE لديهم مرتفعة بينما بلغت النسبة الطبيعية لديهم (40%) أيضاً.



الشكل (1-4) المنحنى القياسي لإيجاد التركيز بدلالة الامتصاصية



أ- نسبة IgE في الذكور



ب- نسبة IgE في الإناث

الشكل (2-4) نسبة ارتفاع IgE في المرضى المصابين بالالتهاب الجيوب الأنفية المزمن
أ- النسبة في الذكور. ب- النسبة في الإناث.

أشار الباحث Rosenfeld وآخرون (2015) أن (78%) من مرضى التهاب الجيوب الأنفية لديهم حساسية كما ذكر الباحث Seedate (2015) أن (14%) من المرضى الذين

يعانون من زوائد أنفية لديهم حساسية ضد الحليب وبرهنت دراسة الباحث Green وآخرون (2014) أن هناك علاقة وثيقة بين التهاب الجيوب الأنفية المزمن والحساسية في مدينة تورينتو Toronto metropolitan area إذ أن محسسات *Alternaria alternate* مهمة جدا للتسبب بالمرض كما يؤدي التعرض لمحسسات وبر القطط وغبار السجاد ragweed إلى الإصابة بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن بالإضافة إلى عوامل أخرى.

يعد التهاب الجيوب الأنفية المصاحب للزوائد الأنفية من الأمراض الالتهابية ويشخص بواسطة التواجد الغزير لخلايا الحمضة مع ارتفاع في إنتاج الكلوبولين المناعي نوع IgE (Santos et al., 2014).

أشار الباحث Luo وآخرون (2013) إلى أن تركيز IgE كان مرتفعاً في مرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن المصاحب للزوائد الأنفية .

إن أحد أسباب التهاب الجيوب الأنفية المزمن هو الحساسية اعتماداً على وجود أو غياب أعراض التحسس ووجود الخلايا الحمضة في الأغشية المخاطية للأنف والزوائد الأنفية بغزارة بالإضافة إلى إنتاج الكلوبولين المناعي نوع IgE والذي يؤكد أن سبب الالتهاب هو الحساسية حيث تكون نسبته عالية مقارنة بمرضى التهاب الجيوب الأنفية غير التحسسي ويؤدي إلى تطورها إلى التهاب الم——زمن (Bachert and Holtappels, 2015; Desrosiers et al., 2011; Van et al., 2006).

تلعب الحساسية دوراً مهماً في التهاب الجيوب الأنفية المزمن حيث ذكر الباحث Leo وآخرون (2007) أن (54%) من الأطفال الذين لديهم حساسية كانوا مصابين بالجيوب الأنفية المزمن كما ذكر الباحث أن نسبة المرضى الذين كان IgE لديهم مرتفع كانت (29.9%) بينما كانت في دراستنا (46.7%), (45%) لدى الذكور والإناث على التوالي .

ذكر الباحث Costa وآخرون (2005) إن مستوى IgE لدى المرضى تراوح من L / KU (2001-24) وأشار الباحثان Philips و Mills (1995) إن التهاب الجيوب الأنفية التحسسي يرتبط بوجود أضداد IgE بالإضافة إلى وجود خلايا الحمضة بغزارة كذلك فإن تركيز IgE بنسبة (40IU/ml) يعتبر الحد الأدنى للنتيجة الموجبة .

ذكر الباحثان Emanuel و Shan (2000) إن الحساسية مرتبطة بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن وإن إجراء اختبار الحساسية لهؤلاء المرضى لتأكيد أن الالتهاب تحسسي وليس جرثومي .

يوضح الجدول (4-4) نوع الحساسية لكلا الجنسين إذ كانت أعلى نسبة للعطاس في الذكور (29%) والإناث (25%) ويبين الجدول أن الربو كان مصحوبا بأحد أنواع الحساسية الأخرى كالعطاس، الاكزما، الحساسية ضد البنسلين، البروفين، الاموكسيسلين والفولتارين ، ذكر الباحث Mishra وآخرون (2010) أن (54%) من المرضى كانوا يعانون من العطاس ولاحظ الباحث Rosenfeld وآخرون (2015) أن (13%) لديهم ربو كما أشار الباحث Tokunaga (2015) أن (17.8%) لديهم ربو.

الجدول (4-4) نسبة الحساسية وأنواعها في المرضى الحساسية من كلا الجنسين قيد الدراسة

نوع الحساسية	الجنس	عطاس	البنسلين	روائح	ربو وعطاس	أكزما وعطاس	ربو وبنسلين	عطاس و البنسلين	عطاس و الدخان	ربو، عطاس و البروفين	ربو، عطاس و اكزما	ربو، عطاس، الاموكسيل و فولتارين	ربو، اكزما و البنسلين	غير معروف
		2	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1
N.7 (%)20	الذكور	(29)	(0)	(14.2)	(14.2)	(14.2)	(0)	(0)	(0)	(14.2)	(0)	(0)	(0)	(14.2)
N.12 (%)34.3	الإناث	3	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1
		(25)	(8.3)	(8.3)	(0)	(0)	(8.3)	(8.3)	(8.3)	(0)	(8.3)	(8.3)	(8.3)	(8.3)

N = العدد الكلي (%) = النسبة المئوية

أشار الباحث Desrosiers وآخرون (2011) إن احد عوامل الخطورة لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن هو الحساسية والربو كما أن نقصان المناعة والتهاب الأنف التحسسي قد يؤدي إلى انسداد الجيوب وعدم جريان الإفرازات بصورة صحيحة وبالتالي التهاب الجيوب الحاد ثم المزمن ذكر الباحث Costa وآخرون (2005) والباحث Matsuno وآخرون (2008) إن الربو القصبي مرتبط بالتهاب الجيوب الأنفية حيث أن (36.7%) من المرضى كان لديهم التهاب جيوب كما أكد ذلك الباحثان Bachert و Holtappel (2015) .

يشير الجدول (5-4) إلى العلاقة بين العطاس ومرضى التهاب الجيوب الأنفية الذين لا يعانون من الحساسية ، كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين الجنس المرضى ووجود الحساسية كما موضح في الجدول (6-4).

الجدول (5-4) النسبة المئوية لوجود العطاس في مرضى التهاب الجيوب الأنفية الذين لا يعانون من الحساسية قيد الدراسة.

الجنس	عدم وجود الحساسية		ليس لديهم عطاس	لديهم عطاس
	الذكور	No.8 (%)22.85	3(37.5)	5(62.5)
الإناث	N.8 (%)22.85	4(50)	4(50)	

N = العدد الكلي

(%) = النسبة المئوية

الجدول (6-4) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود الحساسية .

الجنس	الحساسية		ليس لديهم حساسية	المجموع
	لديهم حساسية	8(14)	7	15
الذكور	12	10(86)	8	20
الاناث	19	16	35	

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس ووجود الحساسية

4:4 التحري عن الغشاء الحيوي والجراثيم في الخزع النسيجية المأخوذة من الزوائدDetection of Biofilm and Bacteria in Nasal-:Polyps Biopsy Patients1:4:4 استخدام صبغة الهيماتوكسيلين ايوسين في التحري عن الغشاء الحيوي Use of-:Haemotoxylin-Eosin in Detection of Biofilm

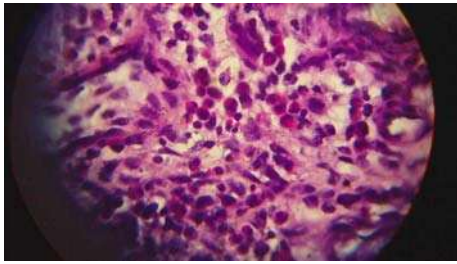
أخذت خزع نسيجية من الزوائد الأنفية للمرضى المصابين بها إذ حضرت مقاطع نسيجية كما جاء في الفقرة (8:2:3) من المواد وطرائق العمل استخدمت صبغة H-E لفحص النسيج وملاحظة الأضرار الناجمة عن الحساسية والإصابة بالجراثيم كما استخدمت للتحري عن وجود الغشاء الحيوي. تعرف الزوائد الأنفية على إنها نموات مستديرة الشكل حميدة ناشئة من الطبقة الطلائية المخاطية المبطننة للأنف والجيوب الأنفية المصابة بالتهاب ناجم عن الحساسية أو الإصابة بالجراثيم إذ تصبح متورمة وحمراء وربما تفرز سائل يسيل باستمرار التحسس والإصابة وبذلك تسد مجرى الأنف وهناك عدة عوامل تحفز تكون الزوائد منها : التهاب الجيوب الأنفية المزمن، الربو، التهاب الأنف التحسسي. (Gleeson *et al.*, 2008).

تكون معظم الزوائد الأنفية مغطاة بطبقة من الخلايا الطلائية الطبقة الكاذبة المهدبة وقد تتواجد خلايا حرشفية وفي مرضى الحساسية يرتبط المحسس (المستضد) ب IgE المرتبط بخلايا البدينة مما يؤدي التحفيز هذه الخلايا داخل النسيج وتحرير Cytokine و Chemokines مما يؤدي إلى جذب خلايا الدم الحمضة والقاعدية كما تحرر الخلايا البدينة Mast cells الهستامين الذي يسبب زيادة سريعة في جريان الدم وزيادة نفاذية الأوعية وزيادة إنزيمات chymase، trypsin و serine esterase والتي تفعل بدورها matrix metalloproteinases الذي يحطم بروتينات النسيج وبالتالي يحطم النسيج ويحرر كميات كبيرة من TNF- α من خلايا البدينة بعد تفعيلها ويؤدي بدوره الزيادة الخلايا اللمفية وخلايا الدم البيضاء leukocytes (Janeway, *et al.*, 2001).

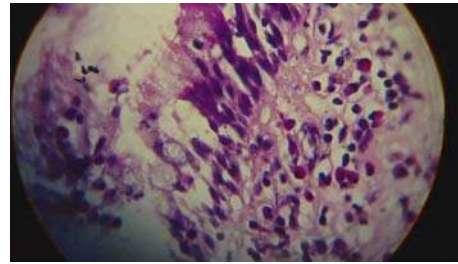
كما يؤدي الالتهاب المزمن للجيوب الأنفية الناجم عن بقاء الجراثيم تحطم دائم للنسيج وارتشاح كثيف للخلايا اللمفية والخلايا البلعمية (Willey *et al.*, 2014).

لاحظ الباحث Dlugaszewska وآخرون (2016) وجود الغشاء الحيوي في (8.6%) من المرضى كذلك ذكر الباحث Beule (2015) أن (9.22%) من المرضى عزلت منهم جرثومة المكورات العنقودية المقاومة للميثاسلين MRSA كانت مكونة للغشاء الحيوي وتحري الباحث Hochstim وآخرون (2010) عن الغشاء الحيوي في مرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن باستخدام نفس الصبغة ولاحظ وجوده في (62%) من المرضى بينما كانت نسبة وجود الغشاء الحيوي في دراستنا (17.14%)

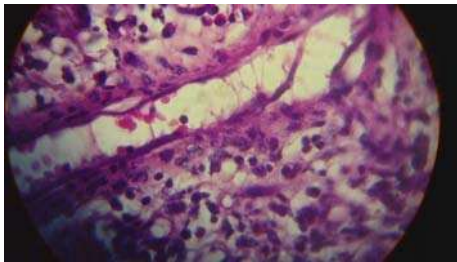
توضح الصور (4-4, 4-5, 4-6) المأخوذة للعينة (11) فرط التنسج ووذمة في لخلايا الظهارية المبطنية للغشاء المخاطي للأنف فضلا عن اختفاء الأهداب وارتشاح قوي ومزمن للخلايا الالتهابية (خلايا الدم الحمضة، الخلايا اللمفية والبلازمية) في طبقة السدى stroma وحول الأوعية الدموية ولوحظ أيضا تغيرات مرضية ناجمة عن الالتهاب المزمن تمثلت بالتوسع في تجويف الوعاء الدموي واحتوائه على كريات دم حمراء فضلا عن ارتشاح الخلايا الالتهابية حوله نتيجة الحساسية ولم تلاحظ وجود أي جراثيم أو غشاء حيوي كما موضح في الصورة (4-7) وهذا ما أكدته الزرع على الأوساط الزرعية أيضا.



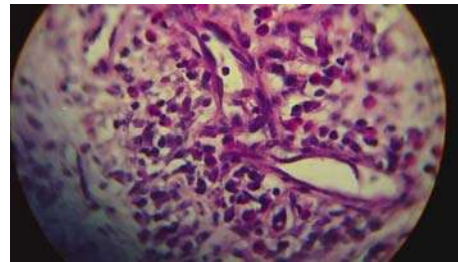
الصورة (4-5) ارتشاح الخلايا الالتهابية بقوة تكبير
100X



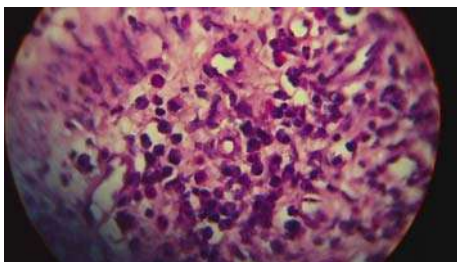
الصورة (4-4) فرط التنسج للخلايا الظهارية
المبطنة للغشاء المخاطي للأنف واختفاء الأهداب
وارتشاح الخلايا الالتهابية في طبقة السدى باستخدام
صبغة الهيماتوكسلين ايوسين بقوة تكبير 100X



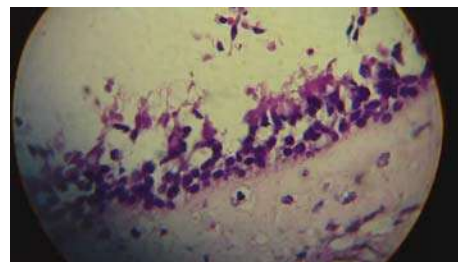
الصورة (4-7) توسع تجويف الوعاء الدموي
واحتوائه على كريات دم حمراء وارتشاح الخلايا
الالتهابية حوله بقوة تكبير 100X



الصورة (4-6) ارتشاح الخلايا الالتهابية حول
الوعاء الدموي بقوة تكبير 100X



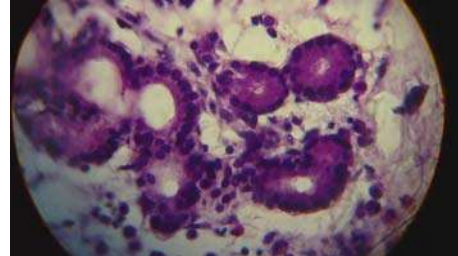
الصورة (4-9) ارتشاح للخلايا الالتهابية ظهرت
بشكل بؤري بقوة تكبير 100X



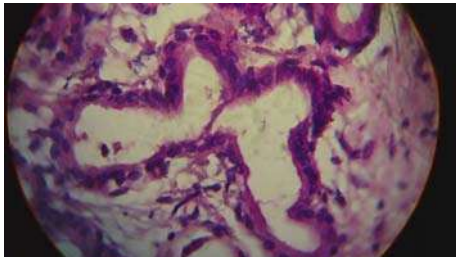
الصورة (4-8) نزف شديد بين الخلايا الظهارية
وتنخر ووذمة ظهرت بلون وردي بقوة تكبير
100X.



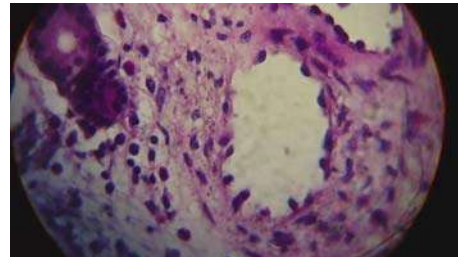
الصورة (4-11) ارتشاح الخلايا الالتهابية مع توسع في تجاويف الغدد المخاطية بقوة تكبير 100X.



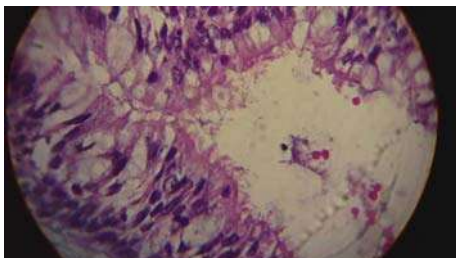
الصورة (4-10) ارتشاح الخلايا الالتهابية وتضييق الغدد الشمية بقوة تكبير 100X.



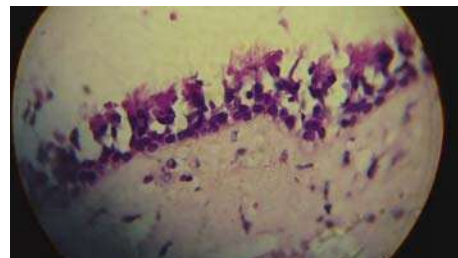
الصورة (4-13) التوسع الشديد للغدد الشمية المخاطية وتحطم جدارها واتحادها مع بعضها وتنخر الخلايا الطلائية المبطن لها بقوة تكبير 100X.



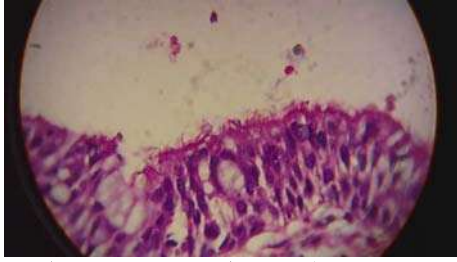
الصورة (4-12) التوسع الشديد في تجويف الوعاء الدموي وتنخر جداره نتيجة لترسب المادة الحامضية بقوة تكبير 100X .



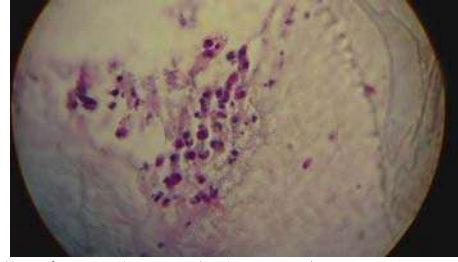
الصورة (4-15) المادة متعددة السكريات خارج الخلوية EPS للغشاء الحيوي بقوة تكبير 100X.



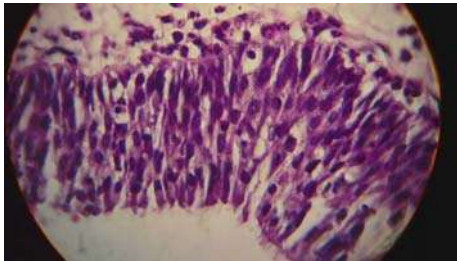
الصورة (4-14) توسف وانسلاخ في الخلايا الظهارية ووجود بقايا من الغشاء الحيوي بقوة تكبير 100X.



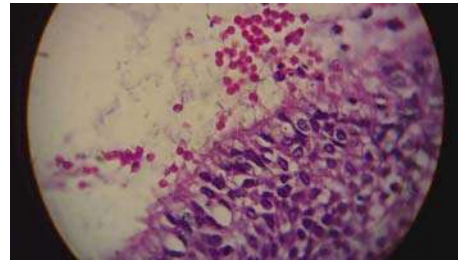
الصورة (4-17) الغشاء الحيوي وتجمع الجراثيم في جزء من الأهداب للخلايا الطلائية و تفجي وتنخر لها بقوة تكبير 100X.



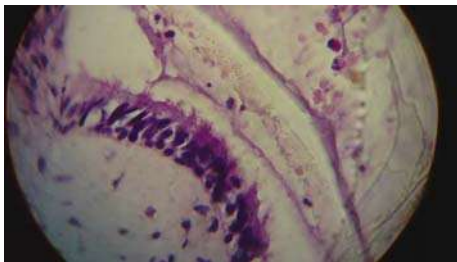
الصورة (4-16) الغشاء الخلوي على سطح الخلايا الظهارية بقوة تكبير 100X



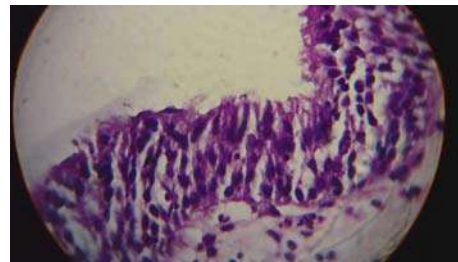
الصورة (4-19) تجمع الجراثيم التي أخذت اللون القاعدي على سطح الخلايا الظهارية المبطنة للأنف عينة 27 بقوة تكبير 100X.



الصورة (4-18) الغشاء الحيوي مع وضوح النزف ونخر الخلايا الظهارية بقوة تكبير 100X.



الصورة (4-21) الغشاء الحيوي المتكون في أهداب الخلايا الظهارية مع تنكس ونخر فيها بقوة تكبير 100X.



الصورة (4-20) تجمع الجراثيم التي أخذت اللون القاعدي على سطح الخلايا الظهارية المبطنة للأنف للعينة 21 بقوة تكبير 100X.

حضرت أيضا شرائح نسيجية للعينات التي كانت موجبة للزرع على الأوساط الزرعية إذ لوحظ نزف شديد بين الخلايا وخرب ووذمة ظهرت باللون الوردي كما ملاحظ في الصورة (8-4) للينة (25) كما لوحظ ارتشاح للخلايا الالتهابية والتي ظهرت بشكل ارتشاح بؤري كما موضح في الصورة (9-4) لنفس العينة.

تشير الصورة (10-4) للينة (27) والصورة (11-4) للينة (18) ارتشاح الخلايا الالتهابية بين الغدد الشمية مع وضوح تضيق Stenosis في تجاويف الغدد الشمية نتيجة لتجمع السوائل المصلية والمخاطية كما تبين الصورة (12-4) للينة (27) تغيرات نسيجية تمثلت في التوسع الشديد في تجويف الوعاء الدموي وتثخن جداره نتيجة لترسب المادة الحامضية وتبين الصورة (13-4) للينة (18) توسع شديد في الغدد الشمية والذي نتج عنه تحطم في جدارها واتحادها مع بعضها وظهرت الخلايا الظهارية تعاني من تنخر وترسب للمادة المخاطية بالإضافة إلى ارتشاح في الخلايا الالتهابية ولوحظ في بعض الخلايا الظهارية توسف وانسلاخ كما موضح في الصورة (14-4) للينة (21) وهذا ما أكدته الزرع على الأوساط الزرعية أيضا.

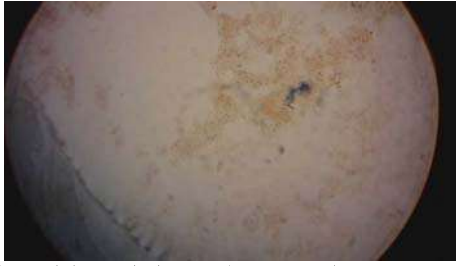
تم التحري عن الغشاء الحيوي أيضا في بعض العينات إذ لوحظ وجود الغشاء الحيوي الذي كونته الجراثيم في العينات (15، 18، 21، 22، 25، 27) وهذا ما وضحته الصور (15-4, 16-4, 17-4, 18-4, 19-4, 20-4, 21-4) ، كما لوحظ وجود خلايا التهابية وتنخر وخرب نسيجي ناجم عن الإصابة.

2:4:4 التحري عن وجود الجراثيم في نسيج الزوائد الأنفية باستخدام صبغة كرام النسيج

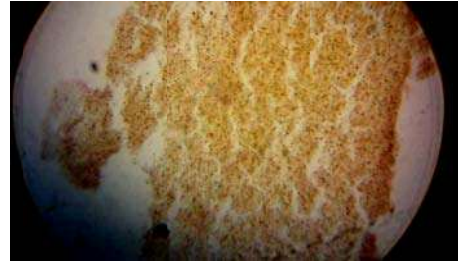
-: Detection of Bacteria in Nasal Polyps Tissue By Gram Stain Tissue

استخدمت صبغة كرام النسيج للتحري عن وجود الجراثيم داخل أنسجة الزوائد الأنفية إذ ظهرت الجراثيم الموجبة لصبغة كرام باللون الأزرق كما موضح في الصورة (22-4, 23-4, 24-4) للعينة (18)، الصورة (25-4) للعينة (21) والصورتين (26-4) للعينة (27) بينما ظهرت الجراثيم السالبة لصبغة كرام باللون الأحمر وصبغت باقي الأنسجة باللون الأصفر كما موضح في الصورة (27-4) للعينة (22) والصورة (28-4) للعينة (25).

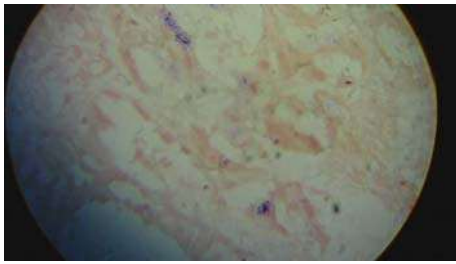
أكد الباحث Zernotti وآخرون (2010) وجود الجراثيم في الزوائد الأنفية لمرضى التهاب الجيوب الأنفية المزمن وكانت نسبتها (28%) بينما لوحظ وجود الجراثيم في دراستنا في (17.14%) .



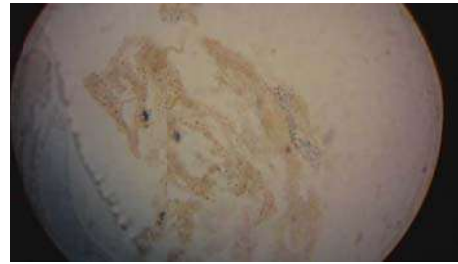
الصورة (23-4) المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الانفية بقوة تكبير 100X.



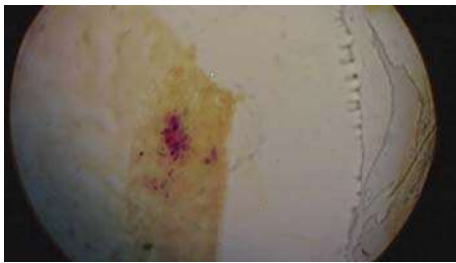
الصورة (22-4) المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الانفية بقوة تكبير 100X.



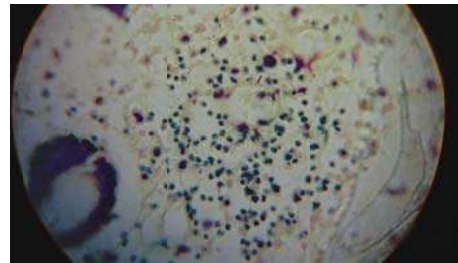
الصورة (25-4) المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الانفية للعينة 21 بقوة تكبير 100X .



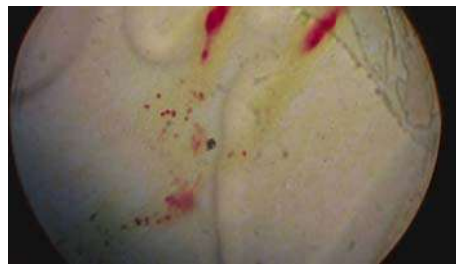
الصورة (24-4) المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الانفية للعينة (18) بقوة تكبير 100X.



الصورة (27-4) العصيات المكورة السالبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الانفية للعينة 22 بقوة تكبير 100X



الصورة (26-4) المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الانفية للعينة 27 بقوة تكبير 100X.



الصورة (28-4) العصيات المكورة السالبة لصبغة كرام في نسيج الزوائد الانفية للعينة 25 بقوة تكبير 100X.

5:4: عمليات التنظير الأنفي وعلاقة العمر والجنس بالإصابة Endoscopy Sinus

-: Surgery , Correlation of Age and Sex With Infection

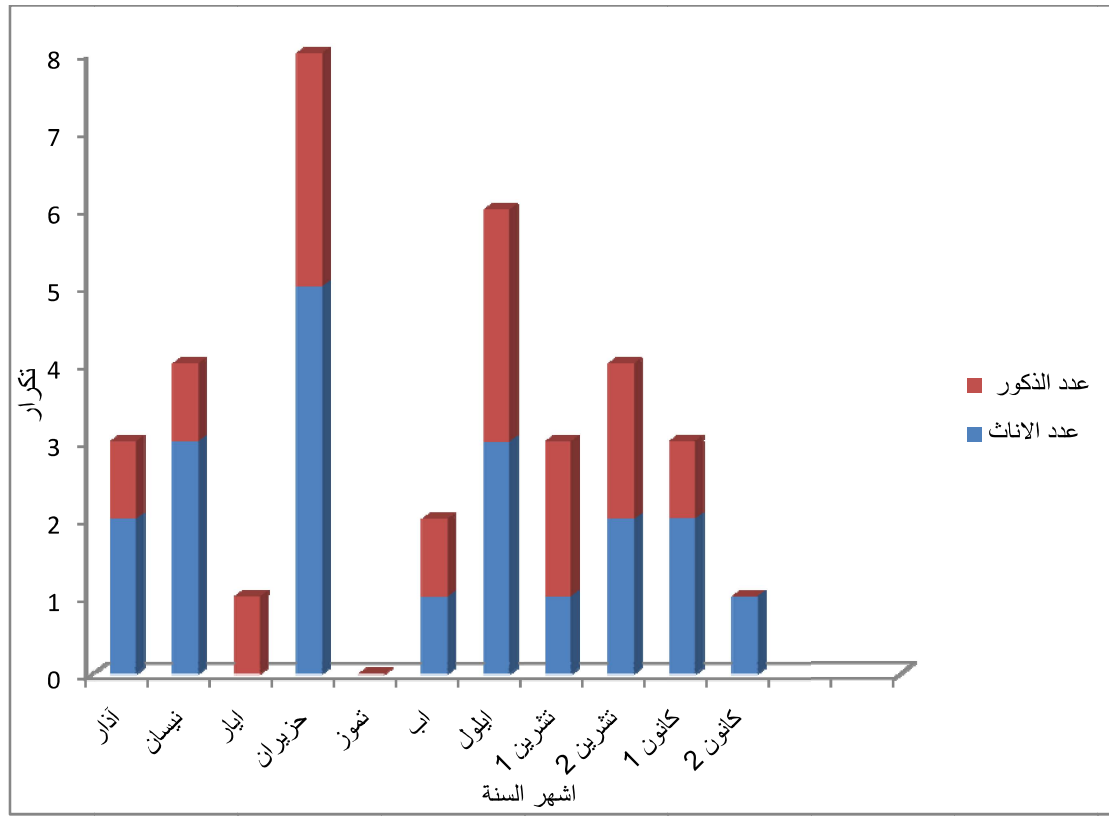
1:5:4 عمليات التنظير الأنفي Endoscopy Sinus Surgery -:

درس تكرار إجراء عمليات التنظير الأنفي للمرضى قيد الدراسة في غضون (11) شهرا من شهر آذار (2013) إلى شهر كانون الثاني (2014) إذ يبين الشكل (4-3) أن أعلى فترة لإجراء التنظير الأنفي كان في شهر حزيران إذ بلغ عدد الذكور (3) بينما كان عدد الإناث (5) يليها شهر أيلول حيث بلغ عدد الذكور والإناث (3) لكل جنس بينما كانت أقل فترة انعدمت فيها عمليات التنظير الأنفي في شهر تموز ،أي (35) مريضا خلال سنة تقريبا ،هذا ما أكدته الباحث Basilio وآخرون (2010) إذ بلغ عدد مرضى التهاب الجيوب الأنفية الخاضعين لعملية التنظير الأنفي (35) مريضا وهذا يدل على أن هذه العملية ذات فعالية عالية في علاج المرضى والسيطرة على الأعراض وتحسينها.

2:5:4 تأثير الجنس والعمر والوزن على المرضى قيد الدراسة Effect of Sex, Age and

Weight on Patients under Study -:

درست العلاقة بين الجنس والعمر للمرضى قيد الدراسة إذ كانت أعلى نسبة في الذكور بعمر (10-25) سنة (46.6%) بينما كانت أعلى نسبة في الإناث بعمر (25-40) سنة (50%) وكما موضح في الجدول (4-7) وهذا ما أكدته الباحث Mishra وآخرون (2010) إذ ذكر أن أعلى نسبة للإصابة كانت بعمر (10-20) سنة وبلغت (17.5%) و(12.5%) في الذكور والإناث على التوالي ،كما وجد من التحليل الإحصائي أنه ليس هناك فرق معنوي بين الجنس المرضى والعمر كما موضح في الجدول (4-8).



الشكل (3-4) تكرار إجراء جراحة الناظور الأنفي للمرضى المصابين بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن قيد الدراسة .

الجدول (4-7) النسب المئوية لأعداد المرضى ضمن الفئات العمرية (سنة) قيد الدراسة.

العمر (سنة)				الجنس	
70-55	55-40	40-25	25-10		
N(%)					
0(0)	3(20)	5(33.3)	7(46.7)	No.15 (%)42.86	الذكور
1(5)	5(25)	10(50)	4(20)	No.20 (%)57.14	الاناث
1(2.85)	8(22.86)	15(42.86)	11(31.43)	No.35 (%)100	المجموع الكلي

N = العدد الكلي

الجدول (4-8) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى والعمر .

العمر (سنة)	الجنس	25-10	40-25	55-40	70-55	المجموع
الذكور		7 (4.71)	5 (6.43)	3 (4.43)	0 (0.43)	15
الاناث		4 (6.29)	10 (8.57)	5 (4.57)	1 (0.57)	20
المجموع		11	15	8	1	35

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس والعمر

لاحظ الباحث Tokunaga وآخرون (2015) أن نسبة الإصابة بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن بلغت في الذكور (67.3%) وفي الاناث (30.6%)، كذلك ذكر الباحث Mishra وآخرون (2010) أن نسبة الإصابة بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن في الذكور بلغت (60%) بينما في الاناث (40%) وأشار الباحث Reh وآخرون (2007) إن التهاب الجيوب الأنفية المزمن وعمليات التنظير الأنفي تزداد بازدياد العمر، كذلك درست العلاقة بين الجنس والوزن إذ كانت أعلى نسبة في المرضى الذكور الذين تتراوح أوزانهم بين (71-80) كغم وبلغت (40%) بينما كانت في الإناث (35%) اللواتي تتراوح أوزانهم بين (50-60) كغم كما موضح في الجدول (4-9)، كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى والوزن كما موضح في الجدول (4-10).

الجدول (4-9) النسبة المئوية لأعداد المرضى لكلا الجنسين حسب الوزن.

الوزن (كغم)	الجنس	60-50	70-61	80-71	90-81	90<
No.15 (%)42.86	الذكور	3 (20)	4 (26.6)	6 (40)	1 (6.7)	1 (6.7)
No.20 (%)57.14	الاناث	7 (35)	4 (20)	4 (20)	3 (15)	2 (10)
No.35 (%)100	المجموع الكلي	10(28.57)	8(22.86)	10(28.57)	4(11.43)	3(8.57)

N = العدد الكلي

الجدول (4-10) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى والوزن .

الجنس	الوزن	60-50	70-61	80-71	90-81	90<	المجموع
الذكور	3	4	6	1	1	1	15
	(4.29)	(3.43)	(4.29)	(1.71)	(1.71)	(1.29)	
الاناث	7	4	4	3	2	2	20
	(5.71)	(4.57)	(5.71)	(2.29)	(1.71)	(1.71)	
المجموع	10	8	10	4	3	3	35

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس والوزن

أشار الباحث Sidell وآخرون (2013) إن ازدياد الوزن أو السمنة في الأطفال له علاقة بالتهاب الأذن الوسطى الحاد وقد يكون له علاقة بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن أيضا.

3:5:4 السكن والمهنة والجنس -Living, Occupation and Sex

يوضح الجدول (4-11) السكن والمهنة والجنس للمرضى قيد الدراسة لكلا الجنسين إذ كانت أعلى نسبة للمرضى خارج المدينة في الذكور وبلغت (60%) بينما تساوت نسبة المرضى خارج وداخل المدينة في الإناث وبلغت (50%)، كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى والسكن كما موضح في الجدول (4-12).

الجدول(4-11) النسب المئوية لأعداد المرضى من كلا الجنسين حسب السكن والمهنة.

الجنس N(%)		السكن		المهنة		
		داخل المدينة	خارج المدينة	طالب	موظف	متقاعد/ربة أعمال منزل حرة
الذكور	15 (42.86)	6(40)	9(60)	4(26.7)	6(40)	0(0)
الاناث	20 (57.14)	10(50)	10(50)	3(15)	5(25)	12(60)
المجموع الكلي	35 (100)	16(45.7)	19(54.3)	7(20)	11(31.4)	12(34.3)

N = العدد الكلي

الجدول (4-12) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى والسكن .

السكن الجنس	داخل المدينة	خارج المدينة	المجموع
الذكور	6 (6.86)	9 (8.14)	15
الاناث	10 (9.14)	10 (10.86)	20
المجموع	16	19	35

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس والسكن .

تؤثر نوعية الهواء ودرجة تلوثه على تطور التهاب الجيوب الأنفية المزمن إذ تزداد في الساكنين في المدن أكثر من الريف وذلك لازدياد الملوثات الناتجة من دخان عوادم السيارات والمصانع والملوثات الأخرى مما يؤدي إلى التهاب الأنف وبالتالي التهاب الجيوب الأنفية الحاد والتي تتطور إلى التهاب مزمن (Kennedy and Hwang,2012)، بينما أشار الباحث Lee (2001) إلى ازدياد الأمراض ومنها التهاب الجيوب الأنفية المزمن في ريف الصين وذلك نتيجة لقلة التعليم والثقافة والخدمات الطبية القليلة مقارنة بالمدينة .

كذلك يوضح الجدول (4-11) أن أعلى نسبة للمرضى كانت في الموظفين الذكور بنسبة (40%) أما في الإناث فكانت في ربات البيوت بنسبة (60%) إذ أن للوظيفة علاقة بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن حيث أن التعرض المستمر للملوثات، نشارة الخشب، أتربة المصانع و المحسسات تزيد من احتمالية الإصابة بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن (Koh et al., 2009) وأشار الباحث Liu وآخرون (2002) إلى أن عمال مطابع الورق تزداد خطورة إصابتهم بالتهاب الجيوب الأنفية المزمن ،التهاب البلعوم المزمن ، سرطان البلعوم الأنفي ،أورام الجلد الحميدة وأمراض الكبد المزمنة ، كما وجد من التحليل الإحصائي انه هناك فرق معنوي بين جنس المرضى والمهنة كما موضح في الجدول (4-13).

الجدول (4-13) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى والمهنة .

المهنة الجنس	طالب	موظف	متقاعد ربة بيت	أعمال حرة	المجموع
الذكور	4 (3)	6 (4.71)	0 (5.14)	5 (2.14)	15
الاناث	3 (4)	5 (6.29)	12 (6.86)	0 (2.86)	20
المجموع	7	11	12	5	35

يوجد فرق معنوي بين الجنس والمهنة .

4:5:4 مدة التهاب الجيوب الانفية Duration of Chronic Sinusitis :-

يعرف التهاب الجيوب الأنفية المزمن على انه التهاب الجيوب الأنفية الذي تزيد مدته عن (12) أسبوعا (Gleeson et al., 2008).

يبين الجدول (4-14) مدة التهاب الجيوب الأنفية في المرضى قيد الدراسة إذ كانت أعلى نسبة في الذكور في الفترة من (1-2) سنة وبلغت (60%) وكانت في الإناث من (2-3) سنة وبلغت (30%) .

ذكر الباحث Kern وآخرون (2007) إن اقل مدة للالتهاب المزمن هي (12) أسبوعا وقد تمتد إلى أكثر من ذلك كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى ومدة الالتهاب كما موضح في الجدول (4-15).

الجدول (4-14) مدة التهاب الجيوب الأنفية المزمن (سنة) في المرضى قيد الدراسة.

الجنس	مدة الالتهاب					
	سنة <	2-1	3-2	4-3	5-4	5 ≤
الذكور	No.15 (%)42.86	2 (13.33)	9 (60)	0 (0)	1 (6.67)	1 (6.67)
الإناث	No.20 (%)57.14	5 (25)	3 (15)	6 (30)	2 (10)	3 (15)
المجموع	No.35 (%)100	7	12	6	3	5

الجدول (4-15) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى ومدة الالتهاب .

الجنس	مدة الالتهاب					
	سنة <	2-1	3-2	4-3	5-4	5 ≤
الذكور	2 (3)	9 (5.14)	0 (2.57)	1 (0.85)	1 (1.28)	2 (2.14)
الاناث	5 (4)	3 (6.85)	6 (3.42)	1 (1.14)	2 (1.71)	3 (2.85)
المجموع	7	12	6	2	3	5

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس ومدة الالتهاب .

5:5:4 بعض الأعراض المصاحبة لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن Some Symptoms of

-: Chronic Sinusitis

1:5:5:4 ألم الرأس ،السعال والإفرازات الأنفية Headache, Cough and Nasal

-:Discharges

إن معرفة الأعراض والعلامات المصاحبة لكل مرض مهم جدا في الوصول إلى التشخيص الصحيح لذلك المرض إذ أشار الباحث Kern وآخرون (2007) والباحث Desrosiers وآخرون (2011) إلى أن هناك أعراض رئيسة وثانوية لالتهاب الجيوب الأنفية ومن الأعراض الرئيسية (الم الوجه ، الضغط ، انسداد الأنف ، إفرازات أنفية وقد تكون قيحية ، إفرازات خلف الأنف ، فقدان حاسة الشم ووجود تقح في التجويف الأنفي عند الفحص ، أما الأعراض الثانوية فهي (الم رأس ، حمى ، تعب ، ألم أسنان ، سعال ورائحة كريهة في الفم).

يوضح الجدول (4-16) النسب المئوية لألم الرأس ،السعال ووجود الإفرازات الأنفية في كلا الجنسين إذ كانت أعلى نسبة لألم الرأس المتقطع في الذكور وبلغت (40.66%) بينما في الإناث كانت في ألم الرأس المستمر وبلغت (50%) ، كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى وألم الرأس وجنس المرضى ونوع ألم الرأس كما موضح في الجدولين (4-17) و(4-18) ، وأشار الباحث Mishra وآخرون (2010) أن نسبة ألم الرأس في مرضى التهاب الجيوب الانفية المزمن بلغت (87%).

كانت أعلى نسبة لها في المرضى الذين يعانون من السعال الرطب في الذكور وبلغت (33.33%) بينما كانت في الإناث في اللواتي يعانون من السعال الجاف وبلغت (25%) كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى والسعال وجنس المرضى ونوع السعال كما موضح في الجدولين (4-19) و(4-20).

الجدول (4-16) نسبة ألم الرأس، السعال والإفرازات الأنفية في المرضى قيد الدراسة

الأعراض الجنس	ألم الرأس			السعال			وجود إفرازات أنفية			
	مستمر	متقطع	لا يوجد	نعم		كلا	نعم			
				جاف	رطب		بيضاء	صفراء	خضراء	
NO.(%)										
الذكور	4	7	4	3	5	7	4	2	2	7
15(%42.9)	(26.67)	(46.66)	(26.67)	(20)	(33.33)	(46.67)	(26.67)	(13.33)	(13.33)	(26.67)
الإناث	10	9	1	5	2	13	5	1	4	10
20(%57.1)	(50)	(45)	(5)	(25)	(10)	(65)	(25)	(5)	(20)	(50)

الجدول (4-17) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى وألم الرأس .

ألم الرأس الجنس	نعم	كلا	المجموع
الذكور	11 (12.86)	4 (2.14)	15
الاناث	19 (17.14)	1 (2.86)	20
المجموع	30	5	35

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس وألم الرأس .

الجدول (4-18) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى ونوع ألم

الرأس .

نوع ألم الرأس الجنس	متقطع	مستمر	المجموع
الذكور	7 (5.03)	4 (4.4)	11
الاناث	9 (8.69)	10 (7.6)	19
المجموع	16	14	30

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس ونوع ألم الرأس .

الجدول (4-19) التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى والسعال .

السعال / الجنس	نعم	كلا	المجموع
الذكور	8 (6.43)	7 (8.57)	15
الإناث	7 (8.57)	13 (11.43)	20
المجموع	15	20	35

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس والسعال .

الجدول (4-20) التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ونوع السعال

نوع السعال / الجنس	جاف	رطب	المجموع
الذكور	3 (4.27)	5 (3.73)	8
الإناث	5 (3.73)	2 (3.27)	7
المجموع	8	7	15

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس ونوع السعال .

كذلك كانت أعلى نسبة للمرضى الذين يعانون من إفرازات أنفية بيضاء في كلا الجنسين وبلغت (26.67%)، (25%) في الذكور والإناث على التوالي كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى ووجود الإفرازات الأنفية وجنس المرضى ونوع الإفرازات كما موضح في الجدولين (21-4) و(22-4).

الجدول (21-4) التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود الإفرازات الأنفية .

المجموع	كلا	نعم	وجود إفرازات أنفية
			الجنس
15	7 (7.29)	8 (7.71)	الذكور
20	10 (9.71)	10 (10.29)	الإناث
35	17	18	المجموع

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس ووجود الإفرازات الأنفية .

الجدول (22-4) التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ونوع الإفرازات الانفية .

المجموع	خضراء	صفراء	بيضاء	نوع الإفرازات
				الجنس
8	2 (2.67)	2 (1.33)	4 (4)	الذكور
10	4 (3.33)	1 (1.67)	5 (5)	الإناث
18	6	3	9	المجموع

لا يوجد فرق معنوي بين الجنس ونوع الافرازات .

2:5:5:4 وجود الحمى، التهاب الأذن والتهاب البلعوم Fever, Otitis and Pharyngitis :-

تعد الحمى من الأعراض لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن وهذا ما أكده الباحث Kern وآخرون (2007) وكما موضح في الجدول (4-23) إذ كانت أعلى نسبة في المرضى الذين ليس لديهم حمى وبلغت (73.33%)، (70%) في الذكور والإناث على التوالي، كما كانت نسبة المرضى الذين لديهم التهاب الأذن (20%)، (30%) في الذكور والإناث على التوالي.

بلغت نسبة المرضى الذين لديهم التهاب بلعوم (33.33%) ، (20%) في الذكور والإناث على التوالي كما موضح في الجدول (4-23)، كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى ووجود الحمى وجنس المرضى والتهاب الأذن وجنس المرضى والتهاب البلعوم كما موضح في الجداول (4-24)، (4-25) و(4-26).

الجدول (4-23) وجود الحمى ،التهاب الأذن،البلعوم وعملية سابقة في المرضى قيد الدراسة

عملية سابقة		التهاب البلعوم				التهاب الأذن				وجود حمى	
NO.(%)											
♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
كلا	نعم	كلا	نعم	كلا	نعم	كلا	نعم	كلا	نعم	كلا	نعم
15(75)	5(25)	8(53.33)	7(46.67)	16(80)	4(20)	10(66.67)	5(33.33)	14(70)	6(30)	11(73.33)	4(26.67)

الجدول (4-24) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود الحمى

المجموع	كلا	نعم	وجود الحمى الجنس
15	11 (10.71)	4 (4.29)	الذكور
20	14 (14.29)	6 (5.71)	الاناث
35	25	10	المجموع

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس ووجود الحمى .

الجدول (4-25) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى والتهاب الاذن .

المجموع	كلا	نعم	التهاب الاذن الجنس
15	12 (11.14)	3 (3.86)	الذكور
20	14 (14.86)	6 (5.14)	الاناث
35	26	9	المجموع

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس والتهاب الاذن .

الجدول (4-26) التحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي لايجاد العلاقة بين جنس المرضى والتهاب البلعوم .

التهاب البلعوم الجنس	نعم	كلا	المجموع
الذكور	5 (3.86)	10 (11.42)	15
الاناث	4 (5.14)	16 (14.86)	20
المجموع	9	26	35

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس والتهاب البلعوم .

يعد انسداد الأنف وفقدان حاسة الشم من أهم الأعراض الرئيسة لالتهاب الجيوب الأنفية المزمن إذ أن (83%) من المرضى يفقدون حاسة الشم ,انسداد الأنف أما رائحة الفم الكريهة فتعد من الأعراض الثانوية للمرض (Glesson *et al.*,2008) . ذكر الباحث Rosenfeld وآخرون (2015) أن (81-95%) من المرضى يعانون من انسداد الأنف و (61-69%) يفقدون حاسة الشم، كما ذكر الباحث Mishra وآخرون (2010) أن (96%) من المرضى يعانون من انسداد الأنف وهذا ما أكدته دراستنا إذ كانت نسبة المرضى الذين يعانون انسداد الأنف (86.67%) ، (85%) في الذكور والإناث على التوالي وكما موضح في الجدول (4-27) ، كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى وانسداد الأنف كما موضح في الجدول (4-28).

الجدول (4-27) النسب المئوية لأعراض انسداد الأنف ، انحراف الأنف ووجود زوائد أنفية في المرضى قيد الدراسة

وجود زوائد أنفية				انحراف الأنف				انسداد الأنف			
No.(%)											
♀		♂		♀		♂		♀		♂	
كلا	نعم	كلا	نعم	كلا	نعم	كلا	نعم	كلا	نعم	كلا	نعم
13 (65)	7 (35)	11 (73.33)	4 (26.67)	10 (50)	10 (50)	9 (60)	6 (40)	3 (15)	17 (85)	2 (13.33)	13 (86.67)

الجدول (4-28) التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى وانسداد الانف .

المجموع	كلا	نعم	انسداد الانف
			الجنس
15	2 (2.14)	13 (12.86)	الذكور
20	3 (2.86)	17 (17.14)	الإناث
35	5	30	المجموع

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس وانسداد الانف

يعد الانحراف الأنفي احد عوامل الخطورة واحد العوامل التشريحية والتي تسهل تطور التهاب الجيوب الأنفية المزمن كما أشار الباحثان Helms و Miller (2006) والباحث Duse وآخرون (2007).

إن الزوائد الأنفية هي احد مضاعفات التهاب الجيوب الأنفية المزمن وتستخدم في التشخيص وتنشأ من القسم العلوي من الأنف حول فتحة الجيب المصفوي وتبرز داخل تجويف الأنف من الزعنفه العليا والوسطى وينتج عن ذلك انسداد الأنف وتوفير ظروف لا هوائية وذلك لانسداد فتحة الجيب الأنفي مما يؤدي إلى التهاب الجيوب الأنفية المزمن (Payne et al.,2011; Gleeson et al., 2008; Brook and Frazier, 2005).

يوضح الجدول (4-27) نسبة وجود الزوائد الأنفية إذ بلغت نسبتها (26.67%)، (35%) في الذكور والإناث على التوالي وكانت النسبة الكلية للمرضى الذين لديهم زوائد أنفية (31.4%). لاحظ الباحث Tokunaga وآخرون (2015) إلى أن نسبة وجود الزوائد الأنفية في المرضى كانت (77.8%) و أشار الباحث Hamilos (2011) إلى أن نسبة مرضى التهاب الجيوب الأنفية الذين لديهم زوائد كانت تقريبا (20%)، كما ذكر الباحث Lee وآخرون (2009) إن نسبة المرضى الذين لديهم زوائد أنفية كانت (64.2%) .

واتفقت نتائجنا مع نتائج الباحث Busaba وآخرون (2008) إذ ذكر أن نسبة المرضى الذين لديهم زوائد أنفية كانت (31.8%)، وأشار الباحث Hashemi وآخرون (2005) إلى أن نسبة الذكور الذين لديهم زوائد أنفية (61.9%) بينما كانت نسبة الإناث (38.09%) والتي ماثلت مع ما أوضحته دراستنا. كما وجد من التحليل الإحصائي انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى ووجود انحراف في الأنف وجنس المرضى ووجود الزوائد الأنفية كما موضح في الجدولين (4-29) و (4-30).

الجدول (4-29) التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى وانحراف الأنف .

الجنس	انحراف الأنف		المجموع
	نعم	كلا	
الذكور	6 (6.86)	9 (8.14)	15
الإناث	10 (9.14)	10 (10.86)	20
المجموع	16	19	35

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس وانحراف الأنف.

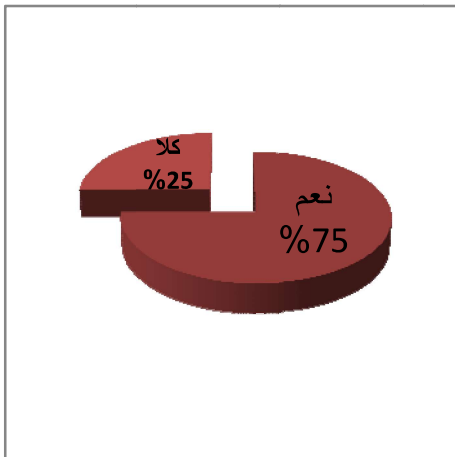
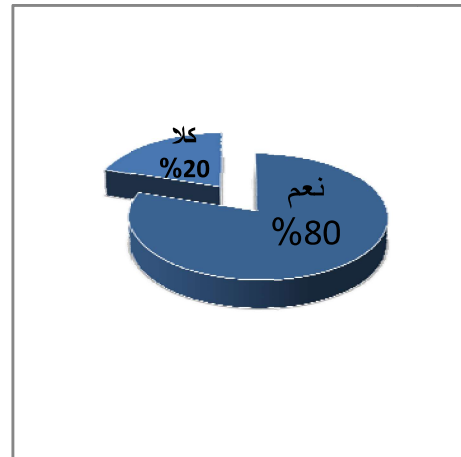
الجدول (4-30) التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود زوائد أنفية .

الجنس	وجود زوائد أنفية		المجموع
	نعم	كلا	
الذكور	4 (4.71)	11 (10.29)	15
الإناث	7 (6.29)	13 (13.71)	20
المجموع	11	24	35

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس ووجود الزوائد الأنفية.

يوضح الشكل (4-4) إن نسبة فقدان حاسة الشم بلغت (80%)، (75%) في الذكور والإناث على التوالي إذ لاحظ الباحث Tokunaga وآخرون (2015) أن (27.3%) يفقدون حاسة الشم كما يوضح الشكل (4-5) إن نسبة المرضى الذين يعانون من رائحة الفم الكريهة بلغت (53.3%)، (40%) في الذكور والإناث على التوالي، كما وجد من التحليل الإحصائي

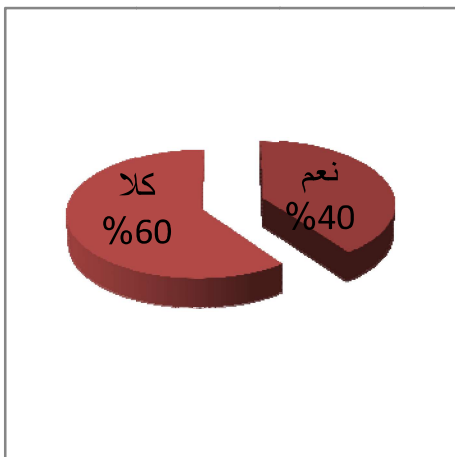
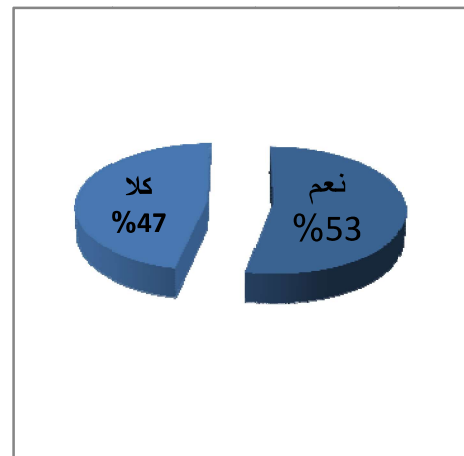
انه ليس هناك فرق معنوي بين جنس المرضى وفقدان حاسة الشم وجنس المرضى ورائحة الفم الكريهة وكما موضح في الجدولين (31-4) و(32-4).



ب- فقدان حاسة الشم في الإناث

أ- فقدان حاسة الشم في الذكور

الشكل (4-4) النسب المئوية لفقدان حاسة الشم لدى المرضى أ- في الذكور ب- في الإناث.



ب- رائحة الفم الكريهة في الإناث

أ- رائحة الفم الكريهة في الذكور

الشكل (5-4) النسب المئوية لرائحة الفم الكريهة لدى المرضى أ- في الذكور ب- في الإناث.

الجدول (4-31) التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى وفقدان حاسة الشم .

المجموع	كلا	نعم	فقدان حاسة الشم
			الجنس
15	3 (3.43)	12 (11.57)	الذكور
20	5 (4.57)	15 (15.43)	الإناث
35	8	27	المجموع

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس وفقدان حاسة الشم .

الجدول (4-32) التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي لإيجاد العلاقة بين جنس المرضى ووجود رائحة

كريهة في الفم .

المجموع	كلا	نعم	رائحة فم كريهة
			الجنس
15	7 (8.14)	8 (6.86)	الذكور
20	12 (10.86)	8 (9.14)	الإناث
35	19	16	المجموع

ليس هناك فرق معنوي بين الجنس ورائحة الفم الكريهة.

6:4 البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية وبعض القياسات المهمة الأخرى

Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Some Important

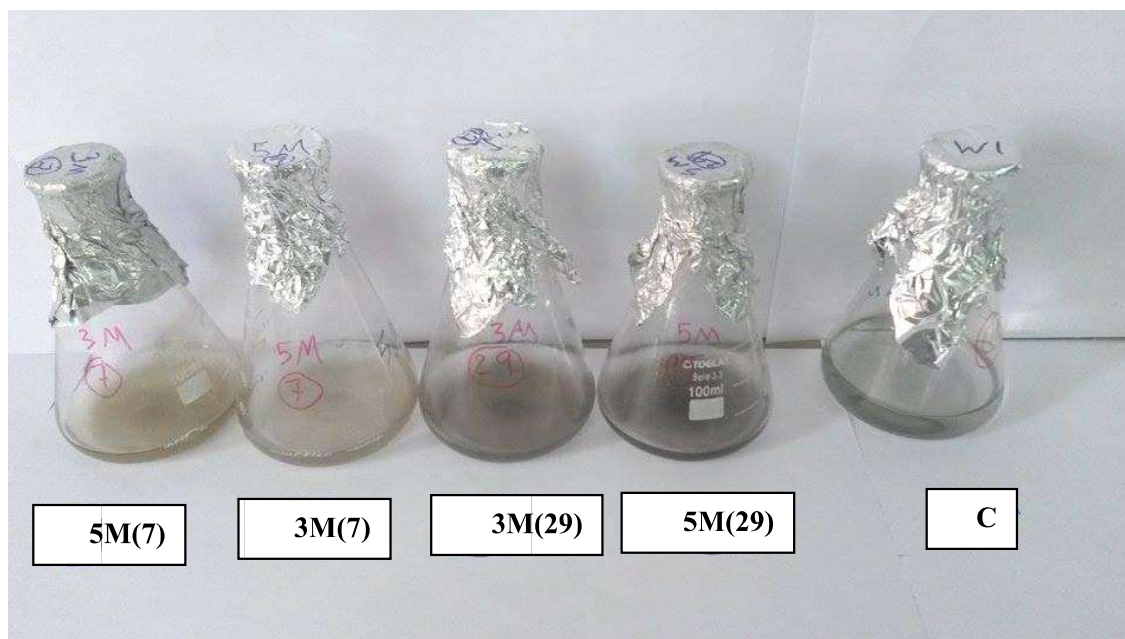
-:Measurement

1:6:4 البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية بواسطة جرثومتي اشيريشيا القولون و المتقلبة

-: Biosynthesis of Silver Nanoparticles by *E.coli* and *Proteus mirabilis*

توضح الصورة (4-29) البناء الحيوي للفضة النانوية بواسطة جرثومتي *E.coli* و *Prot. mirabilis* واللذان غيرتا لون الوسط من عديم اللون إلى اللون البني الفاتح بعد (5) أيام من التحضين وتركزت شدة اللون بازدياد فترة التحضين وذلك نتيجة لاختزال نترات الفضة $AgNO_3$ بواسطة أنزيم اختزال النترات (nitrate reductase) المنتج من قبل الجراثيم قيد الدراسة الذي يقوم باختزال النترات إلى نترات وبهذا يختزل ايونات الفضة Ag^+ إلى دقائق فضة نانوية AgNPs وبذلك يتغير لون الوسط من عديم اللون إلى البني حيث نلاحظ أن الدورق من جهة اليمين حاوي على محلول سيطرة لم يتغير لونه أما باقي الدورق فتغير اللون إلى البني الفاتح والبني الداكن .

كما لاحظ الباحثان Arjun و Bholay (2012) أن جرثومة *Pseudomonas aerogenosa* لها القابلية على البناء الحيوي للفضة النانوية بنفس الطريقة وغيرت لون الوسط إلى البني الفاتح دلالة على تكوين دقائق الفضة النانوية .



الصورة (29-4) البناء الحيوي للفضة النانوية قيد الدراسة

C : محلول سيطرة

3M(29) : المحلول الفضة النانوي المتكون من جرثومة *Proteus mirabilis* ذو المولارية (3M)

5M(29) : المحلول الفضة النانوي المتكون من جرثومة *Proteus mirabilis* ذو المولارية (5M)

3M(7) : المحلول الفضة النانوي المتكون من جرثومة *E.coli* ذو المولارية (3M)

5M(7) : المحلول الفضة النانوي المتكون من جرثومة *E.coli* ذو المولارية (5M)

2:6:4 استخدام طيف الأشعة تحت الحمراء لتشخيص تكوين دقائق الفضة النانوية من قبل جرثومتي

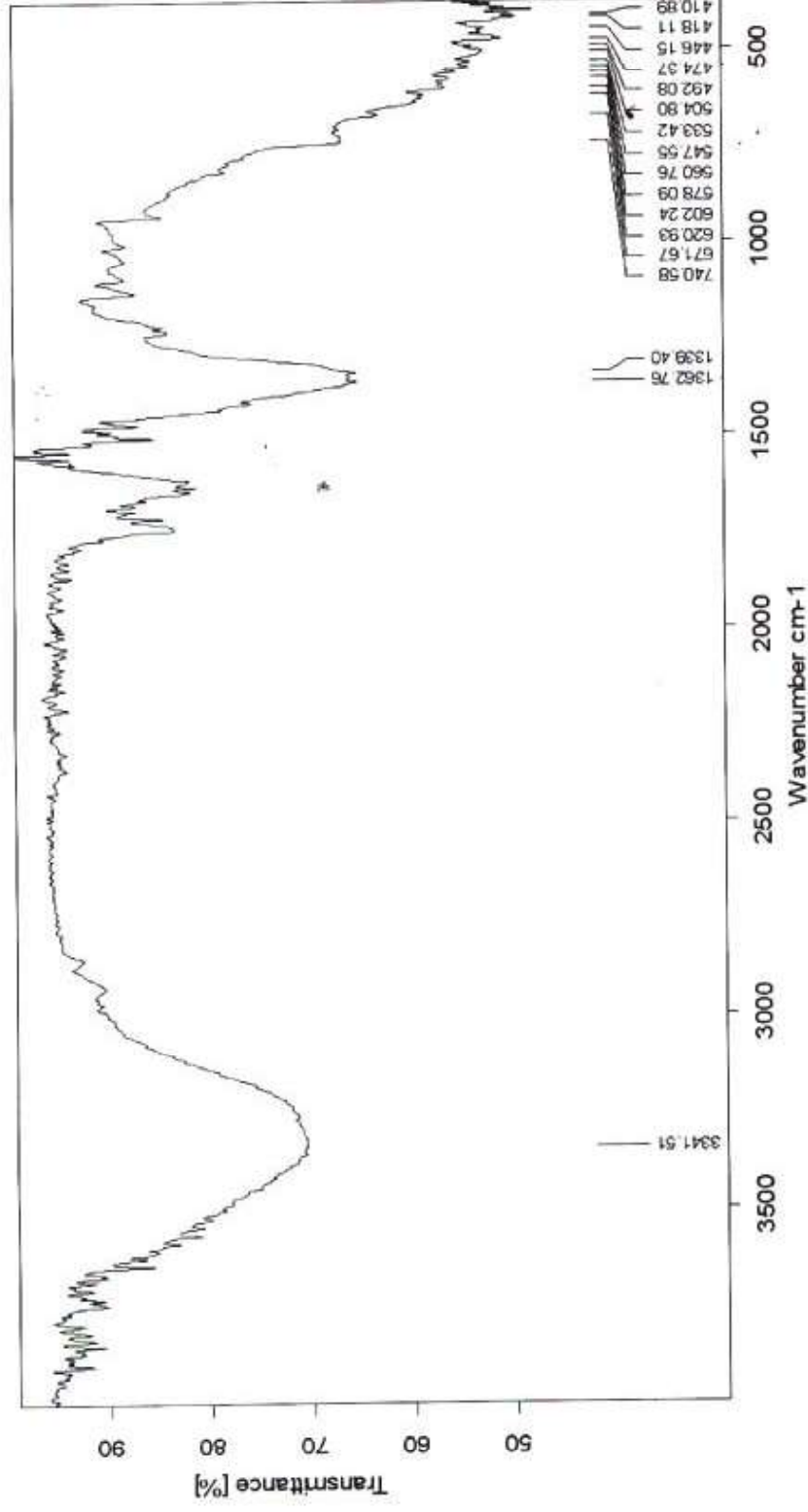
اشيريشيا القولون والمتقلبة FTIR for Detection of Biosynthesis of Silver

-: Nanoparticles by *E.coli* and *Proteus mirabilis*

يوضح الشكلين (6-4) و (7-4) المنحنى الخطي لمحلولي السيطرة (3M) و (5M) على التوالي بدون تكون أي دقائق فضة نانوية أما الشكلين (8-4) و (9-4) فيوضح المنحنى للعينتين (7) و (29) في محلول (3M) على التوالي.

تبين قياسات طيف الأشعة تحت الحمراء وجود دقائق حيوية ناجمة عن الاستقرار الكافي لدقائق الفضة النانوية المصنعة والتي تظهر حزم امتصاص عند الترددات (3854.64 cm^{-1}) ، (3736.62 cm^{-1}) و (3341.71 cm^{-1}) أما الشكلين (10-4)

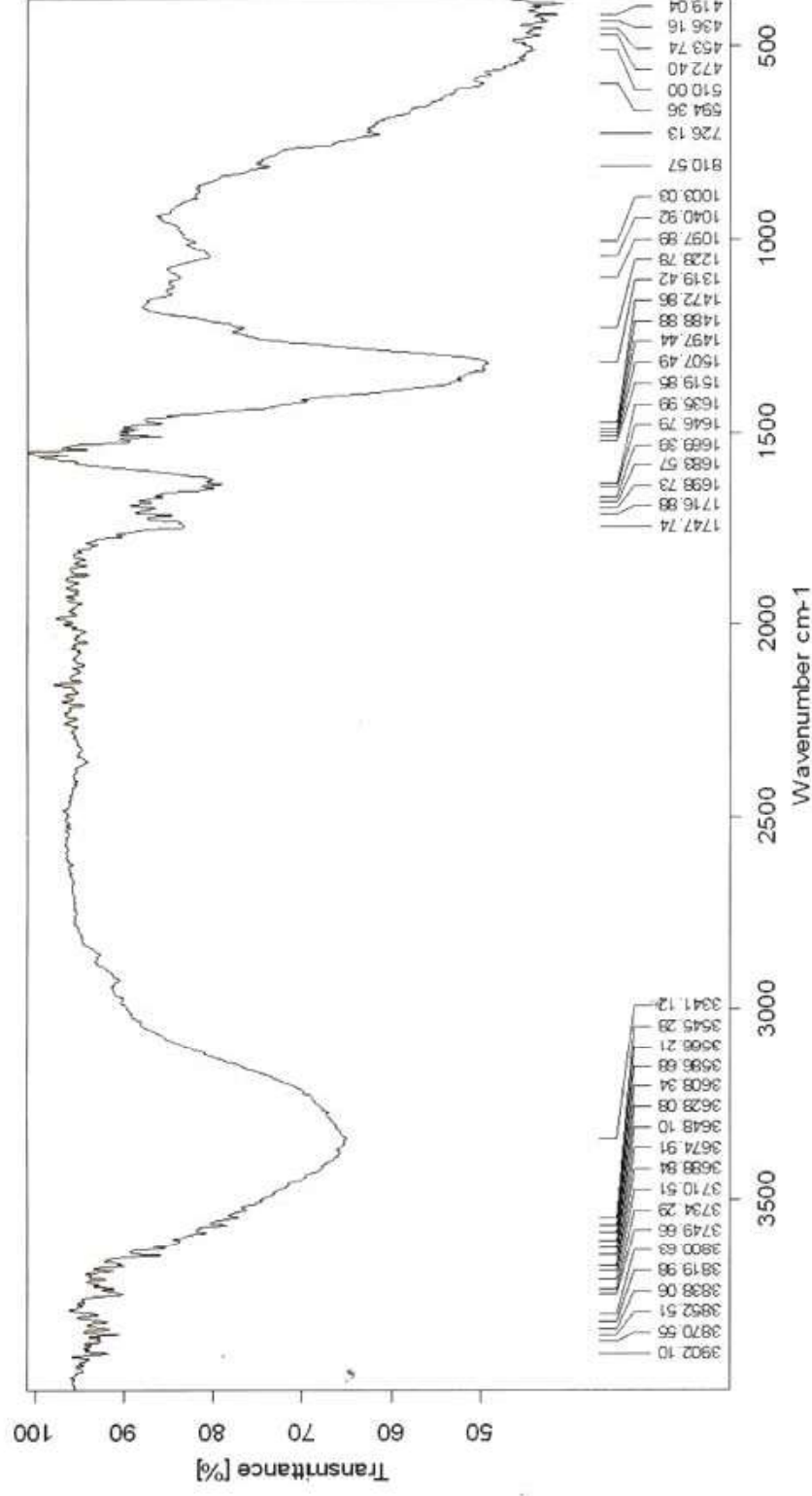
و(4-11) فيوضحان المنحنى للعينتين (7) و(29) في محلول (5M) على التوالي وتكون حزم الامتصاص للاختزال الحيوي عند الترددات (3854.73 cm^{-1}) ، (3712.50 cm^{-1}) تعود إلى أواصر O-H المميزة والالديهايد C-H أما (2216.44 cm^{-1}) و (2029.69 cm^{-1}) تعود إلى الأصرة C-N المميزة لمركبات الامايد هذا يدل على أن الجزيئات الإحيائية يمكنها أن تؤدي وظيفة مزدوجة في تكوين واستقرار دقائق الفضة النانوية في الوسط ،كما أكد ذلك الباحثان Manonmani و Juliet (2011).



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\3N.0 3M Instrument type and / or accessory

22/04/2014

الشكل (6-4) طيف الأشعة تحت الحمراء لمحلول السيطرة 3 مولار.



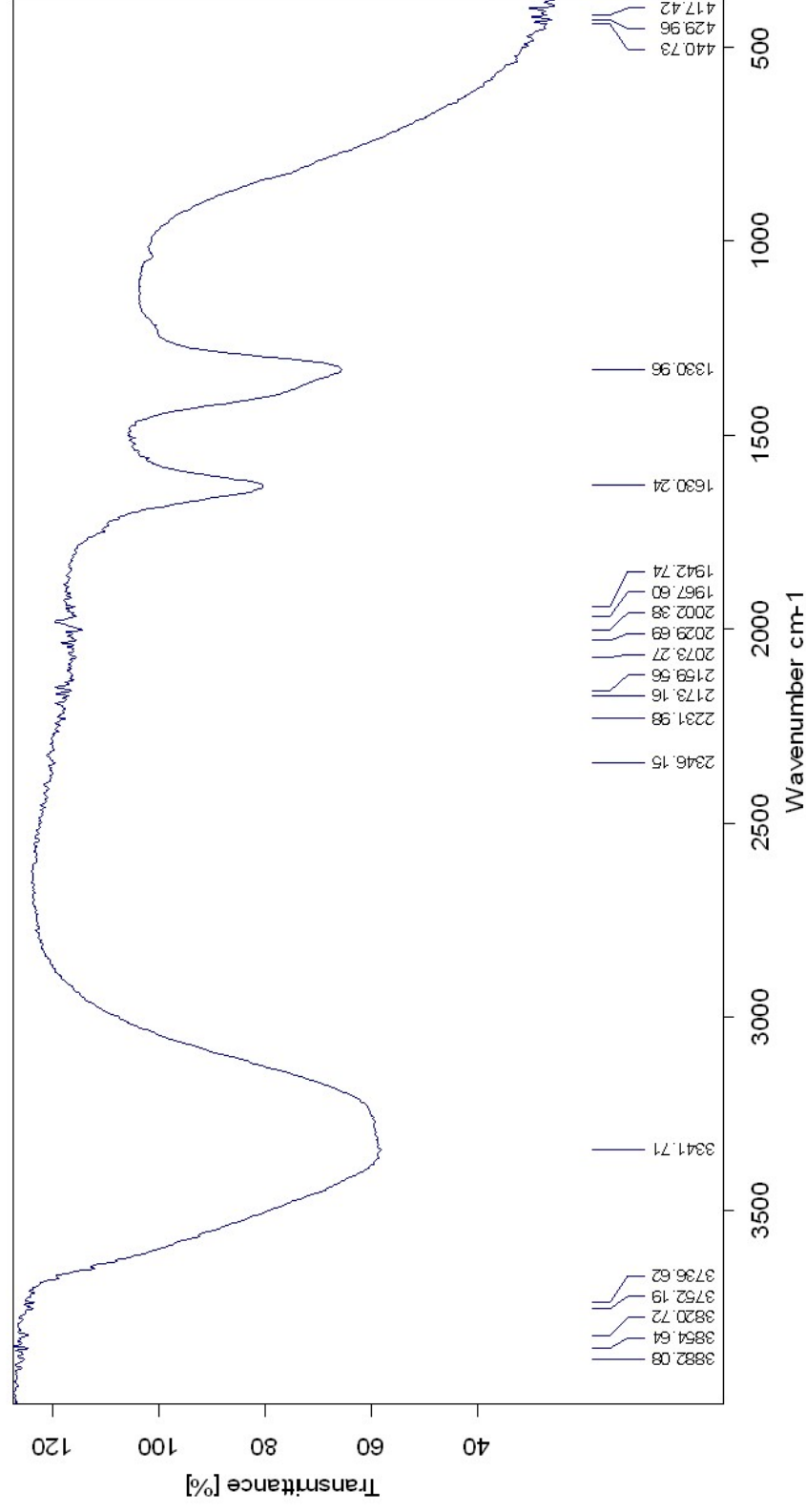
22/04/2014

Instrument type and / or accessory

5M

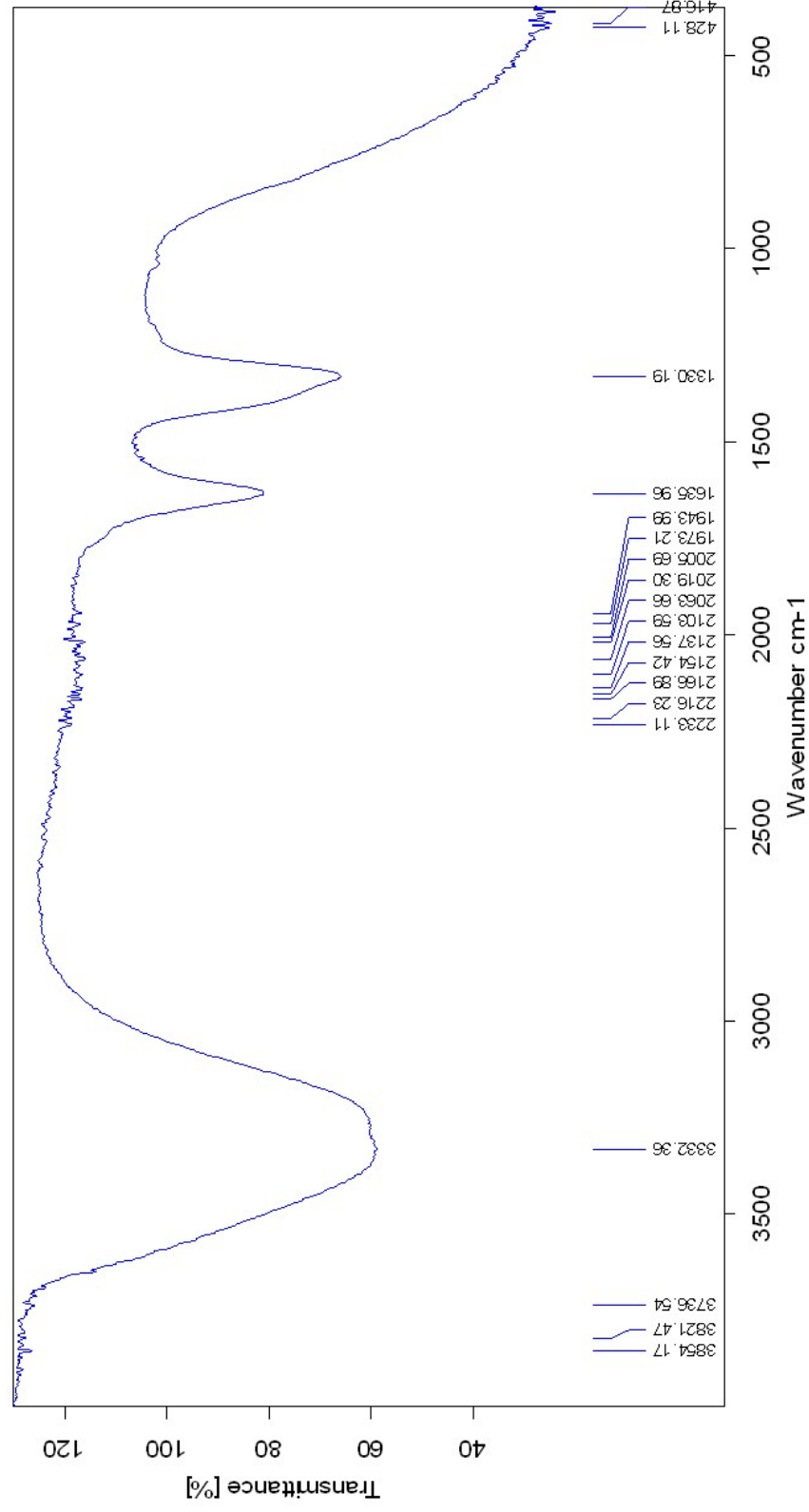
C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\5M.0

الشكل (7-4) طيف الأشعة تحت الحمراء لمحلول السيطرة 5 مولار.



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\7-3M.0	7-3M	Instrument type and / or accessory	16/04/2014
--------------------------------------	------	------------------------------------	------------

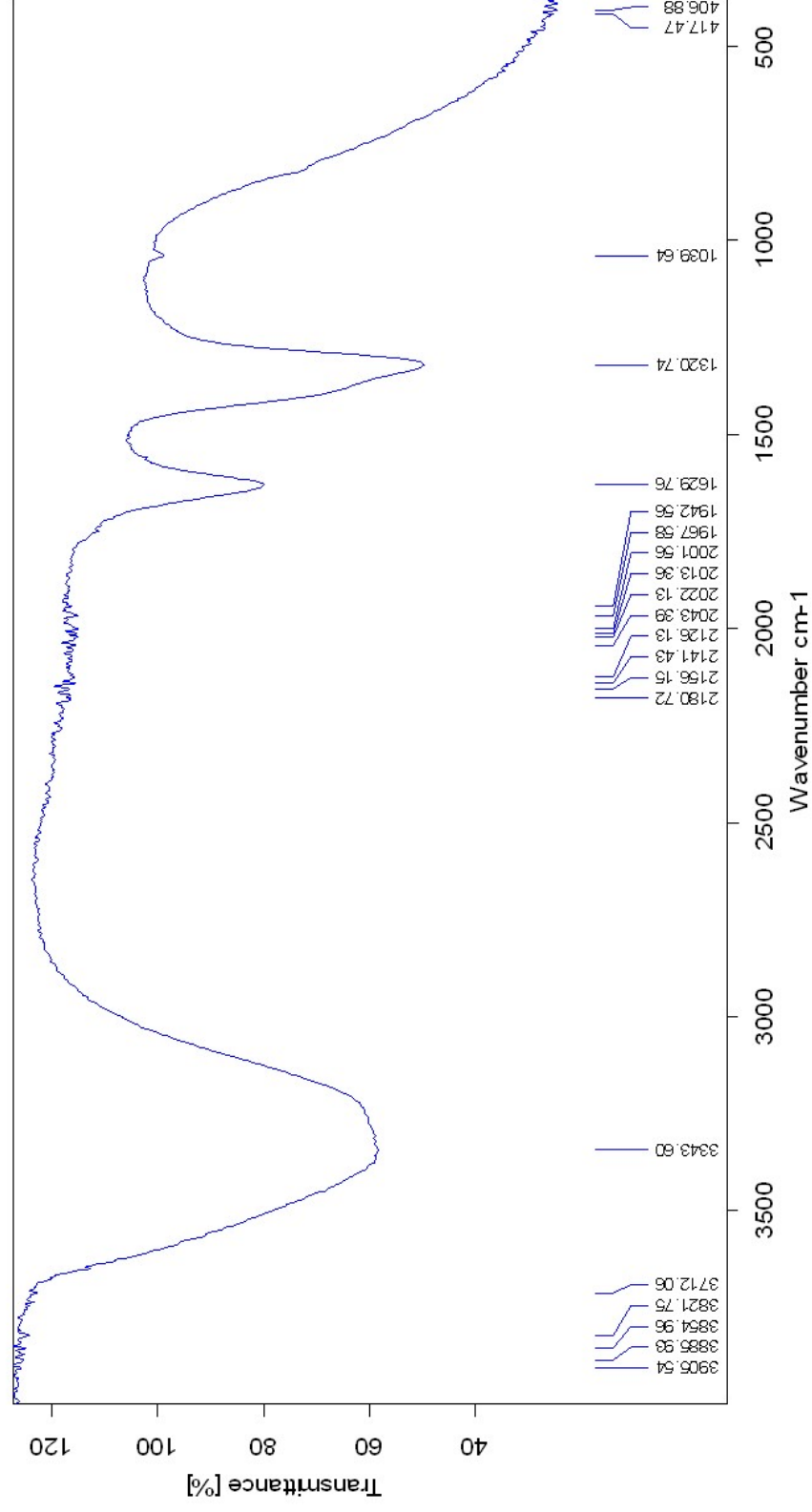
الشكل (8-4) طيف الأشعة تحت الحمراء للمحلول النانوي المتكون من جراثيم *E.coli* ومحلول نترات الفضة 3 مولار.



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\29-3M.0	29-3M	Instrument type and / or accessory	16/04/2014
---------------------------------------	-------	------------------------------------	------------

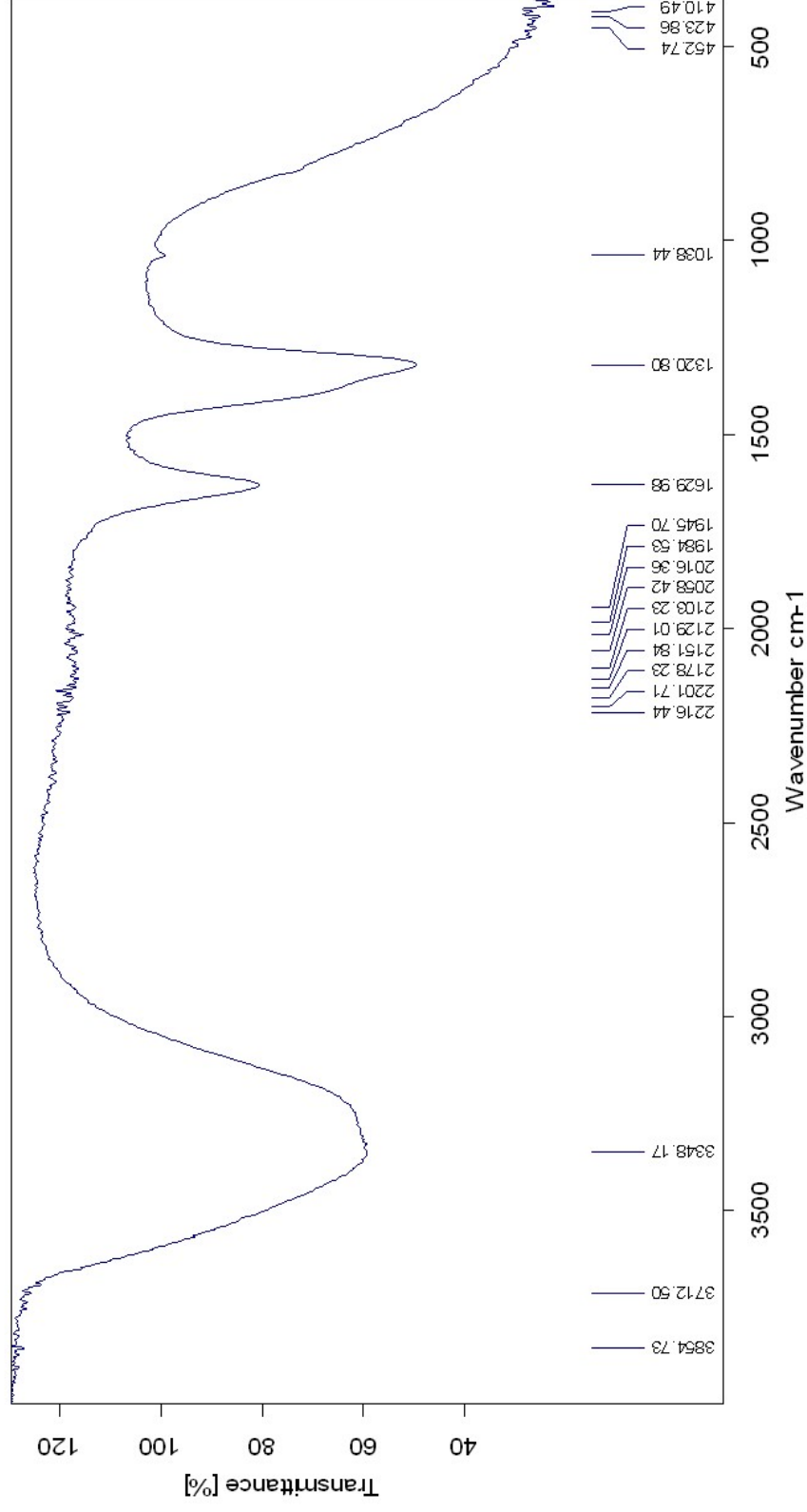
الشكل (9-4) طيف الأشعة تحت الحمراء للمحلول النانوي المتكون من جراثيم *Proteus mirabilis* ومحلول نترات

الفضة 3 مولار.



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\7-5M.1	7-5M	Instrument type and / or accessory	16/04/2014
--------------------------------------	------	------------------------------------	------------

الشكل (10-4) طيف الأشعة تحت الحمراء للمحلول النانوي المتكون من جراثيم *E.coli* ومحلول نترات الفضة 5 مولار.



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\29-5M.0	29-5M	Instrument type and / or accessory	16/04/2014
---------------------------------------	-------	------------------------------------	------------

الشكل (11-4) طيف الأشعة تحت الحمراء للمحلول النانوي المتكون من جراثيم *Proteus mirabilis* ومحلول نترات

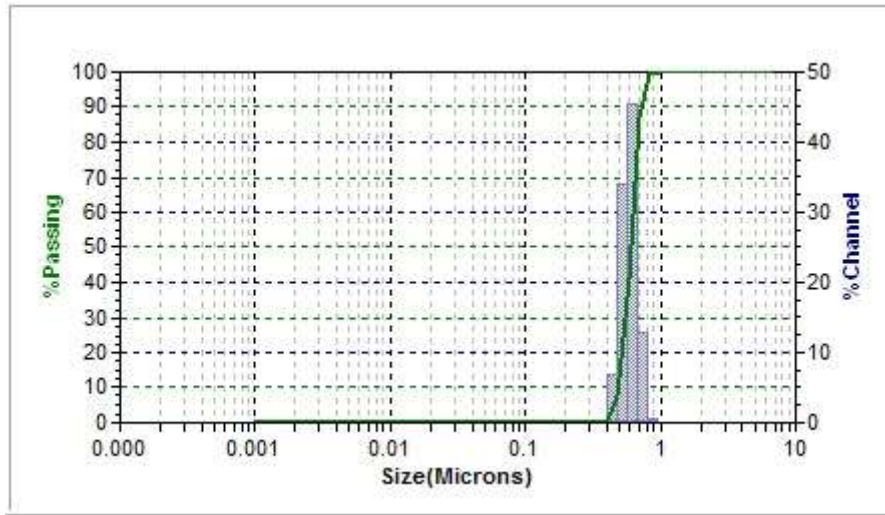
الفضة 5 مولار.

3:6:4 استخدام جهاز محلل زيتا لتحديد حجم دقائق الفضة النانوية المصنعة وجهد زيتا لها Zeta size for Determination of Size and Zeta Potential of Synthesized Silver Nanoparticles

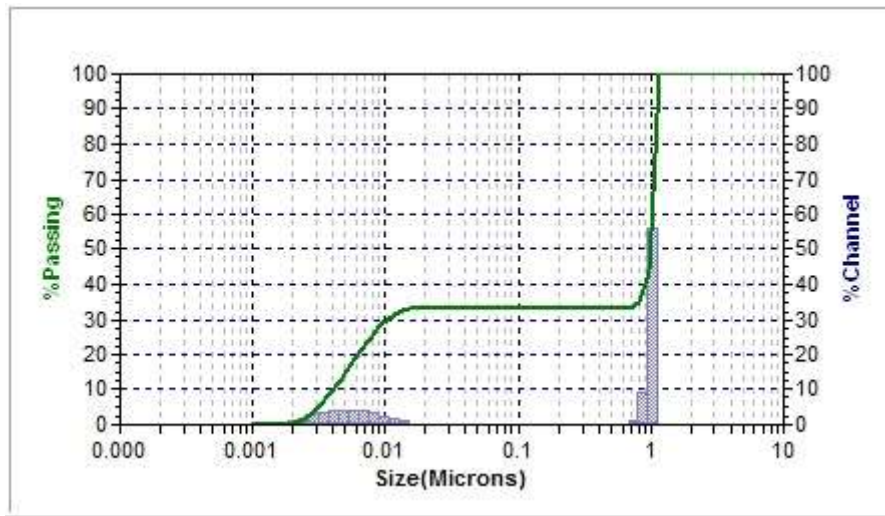
شخص تكون دقائق الفضة النانوية من قبل جرثومتي *E.coli* و *Prot. mirabilis* في المحلول باستخدام جهاز Nano-25 إذ أن هذا الجهاز له القابلية على كشف الدقائق النانوية الأصغر من (5nm) إلى عدة مايكروونات .

يوضح الشكل (4-12) للعينه (3M-7) وجود نوع واحد من الدقائق الفضة النانوية بحجم اقل من (1nm) وكان جهد زيتا لها (68.48mV) بشحنة موجبة (0.281fc) حجم هذه الدقائق النانوية كان صغيرا جدا أما بالنسبة لنفس العينة في محلول (5M) الموضح في الشكل (4-13) فوجد نوعان من الدقائق النانوية الأولى بحجم حوالي (0.006nm)، والأخرى حوالي (1nm) وجهد زيتا لهذه العينة (816.8mV) وبشحنة موجبة (5.61fc).

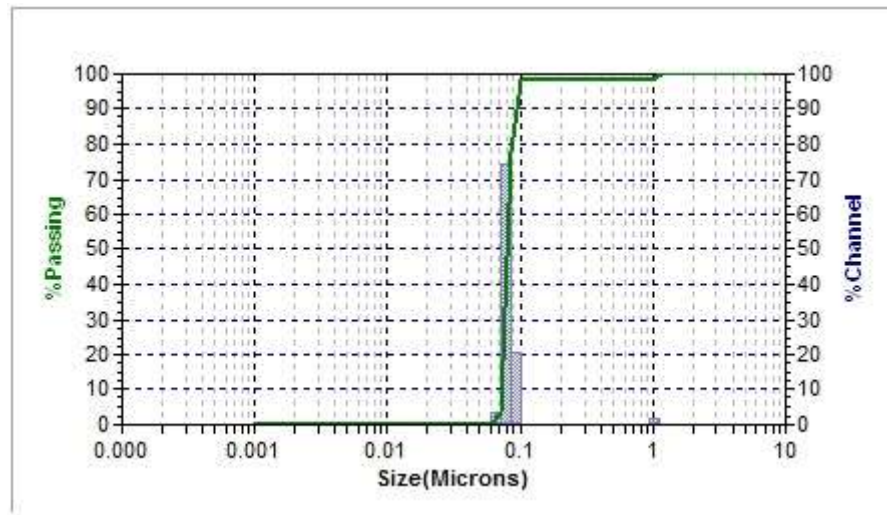
يوضح الشكل (4-14) الدقائق النانوية المتكونة للعينه (29) في المحلول (3M) وكان حجمها (0.1nm) وجهد زيتا لها (89 -530 mV) وبشحنة سالبة (-0.291fc) ، أما الشكل (4-15) فيوضح العينة (29) في المحلول (5M) ويبين وجود ثلاثة أنواع من الدقائق النانوية الأولى حجمها اقل من (0.002nm) والثانية حجمها (0.1nm) أما الثالثة فكان حجمها (1nm) وجهد زيتا للعينه (71 -1033 mV) وبشحنة موجبة (0.61fc) وهذا يدل على تكون الدقائق النانوية للعينات الأربعة كانت صغيرة جدا ويدل أيضا على أن الجراثيم المستخدمة في هذه التجربة قامت بتكوين دقائق فضة نانوية بأحجام مختلفة ،كما توضح الجداول (4-33,4-34,4-35,4-36) في الملحق قياسات أخرى في جهاز محلل زيتا للعينات قيد الدراسة .



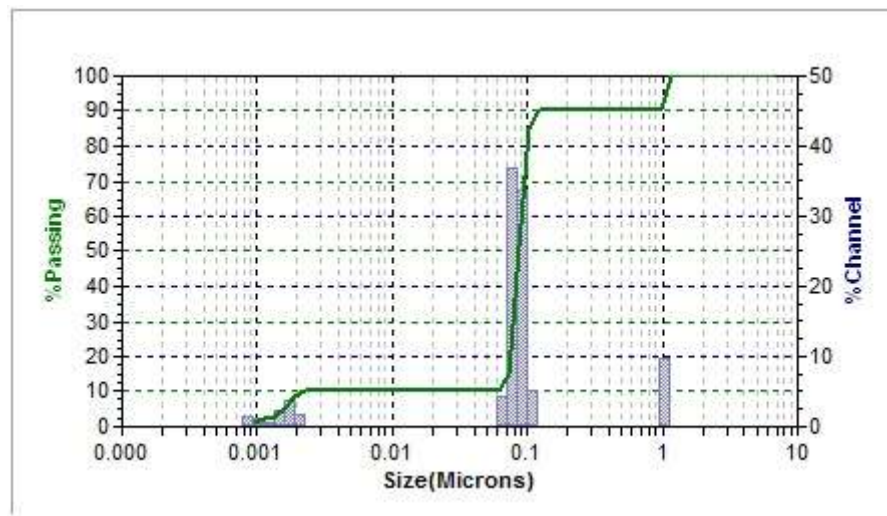
الشكل (4-12) توزيع حجم الدقائق النانوية في المحلول 3 مولار المتكونة من قبل جرثومة *E. coli*.



الشكل (4-13) توزيع حجم الدقائق النانوية في المحلول 5 مولار المتكونة من قبل جرثومة *E. coli*.



الشكل (4-14) توزيع حجم الدقائق النانوية في المحلول 3 مولار المتكونة من قبل جرثومة *Proteus mirabilis*.



الشكل (4-15) توزيع حجم الدقائق النانوية في المحلول 5 مولار المتكونة من قبل جرثومة *Proteus mirabilis*.

4:6:4 اختبار الفعالية التثبيطية للمحلول الحاوي على دقائق الفضة النانوية المتكونة من قبل جرثومتي اشيريشيا القولون والمتقلبة على الجراثيم المعزولة قيد الدراسة Activity Inhibition Test of Silver Nanoparticles Solution Biosynthesized by *E.coli* and *Proteus mirabilis* :-

درست الفعالية التثبيطية لمحلول دقائق الفضة النانوية بتركيزي (3M) و (5M) المتكون من قبل جرثومتي *E.coli* عينة (7) و *Proteus mirabilis* عينة (29) ضد الجراثيم المعزولة إذ يوضح الجدول (4-37) أن الجراثيم *Citro. freundii*, *E.coli*, *Prot. mirabilis*, *Staph. epidermidis*, *Staph.hominis*, *Staph.lugdunensis*, *Staph.warneri* تم تثبيط نموها من قبل المحاليل الحاوية على دقائق الفضة النانوية المتكونة ، أما جرثومة *Entero.cloaceae* فقد تم تثبيط نموها من قبل المحاليل ماعدا المحلول (7-3M) ، أما الجراثيم *Kleb.pneumoniae*, *Moraxella spp.*, *Staph.xylosus* فقد كانت متوسطة الحساسية للمحاليل المختبرة وكانت الجراثيم *Acineto.lowffii*, *Entero.aerogenes*, *Ser.marcescens*, *Staph.capitis*, *Staph.saprophyticus* مقاومة للمحاليل المختبرة .

الجدول (4-37) أقطار الفعالية التثبيطية (ملم) لمحاليل الفضة النانوية المصنعة ضد الجراثيم المعزولة قيد الدراسة .

(29-5M)	(29-3M)	(7-5M)	(7-3M)	المحاليل النانوية المختبرة
قطر التثبيط (مليمتر)				العزلات الجرثومية
R	R	R	R	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
13	11.9	14	13	<i>Citrobacter freundii</i>
6.9	5.2	6.4	5.5	<i>Enterobacter aerogenes</i>
12.5	8.4	19.8	5	<i>Enterobacter cloacae</i>
14.4	13	14.1	12.8	<i>Escherichia coli</i>
8.8	7.8	8.6	7.8	<i>Klebsiella pneumonia</i>
9.2	8.3	9.3	8.4	<i>Moraxella spp.</i>
9.2	9	9.4	8.1	<i>Proteus mirabilis</i>
5.5	5.5	5.5	5.5	<i>Serratia marcescens</i>
6.8	6.8	6.5	R	<i>Staphylococcus capitis</i>
9.9	9.1	10.2	8.4	<i>Staph.epidermidis</i>
10.9	8.6	11.4	9.3	<i>Staph.hominis</i>
10.2	10	13.5	10.5	<i>Staph.lugdunensis</i>
5.5	5.5	5.5	5.5	<i>Staph.saprophyticus</i>
5.7	5.7	5.7	5.7	<i>Staph.sciuri</i>
10	8.8	12.3	11.9	<i>Staph.warneri</i>
8.7	7.1	10	8.6	<i>Staph.xylosus</i>

7-3M : المحلول الفضة النانوي المتكون من جرثومة *E.coli* ذو المولارية (3M)

7-5M : المحلول الفضة النانوي المتكون من جرثومة *E.coli* ذو المولارية (5M)

29-3M : المحلول الفضة النانوي المتكون من جرثومة *Proteus mirabilis* ذو المولارية (3M)

29-5M : المحلول الفضة النانوي المتكون من جرثومة *Proteus mirabilis* ذو المولارية (5M)

R : مقاومة للمحاليل المختبرة

تمتلك الفضة فعالية تثبيطية ومستوى عالي من السمية للأحياء المجهرية وأقل سمية للخلايا الحيوانية إذ تمتلك مدى واسع من التأثير على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وكذلك الخمائر حيث تعمل على تثبيط تضاعف الجراثيم بواسطة الارتباط بالحامض النووي منقوص الأوكسجين الجرثومي وأيضاً إيقاف عدد من الأنزيمات مما يؤدي إلى موت الخلية الجرثومية (Sousa et al., 2011).

أشار الباحث Ansari وآخرون (2011) إلى أن دقائق الفضة النانوية ذات فعالية تثبيطية جيدة ضد جرثومة المكورات العنقودية القححية الحساسة والمقاومة للمضاد الحيوي الميثيسلين (MSSA) *Methicillin sensitive Staph.aureus* و *Methicillin* (MRSA) *Staph.aureus* كما ذكر الباحثان Taylor و Webster (2011) إن دقائق النانو ترتبط بجدار الجرثومة مسببة تمزيقه من خلال التفاعل المباشر أو عن طريق تكوين الجذور الحرة، كما لاحظ الباحثان أن دقائق الفضة النانوية لها القدرة على النفاد إلى الغشاء الحيوي وبالتالي تقليل تكوين هذا الغشاء والقضاء على الجراثيم داخله .

درس الباحثان Lakshmipathy و Nanda (2013) الفعالية التثبيطية لدقائق الفضة النانوية لعدد من الجراثيم ولاحظ أن *Staph.aureus* أعطت أعلى فعالية تثبيطية بلغت (11) ملم أما *Kleb.pneumoniae* أعطت (9) ملم فقط.

7:4: الكشف عن جين (*mrkA*) من عزلات الجراثيم السالبة لصبغة كرام Detection

-: of *mrkA* Gene in Gram Negative Isolates

1:7:4 استخلاص البلازميد والتحري عن وجود الجين Extraction of Plasmid and

-: Detection of (*mrkA*) Gene

استخلص البلازميد الموجود في عزلات الجراثيم السالبة لصبغة كرام كما جاء في الفقرة (11:2:3) من المواد وطرائق العمل إذ لوحظ وجوده في (4) عزلات تابعة للأنواع :

2-*Moraxella spp.*

4-*Entero.aerogenes*

5-*E. coli*

6-*Citro. freundii*

كما موضح في الصورة (4-30) في الملحق

وهذا ما أكدته الباحثة Ong وآخرون (2010) من عزل الجين من بلازميد جرثومتي *E. coli* و *Citro. freundii* ، أشار الباحث Ong وآخرون (2008) إلى وجود الجين في بلازميد جرثومة *E. coli* أيضا.

2:7:4 تحديد تتابع القواعد النتروجينية لجين *mrkA* المعزول من جرثومتي *mrkA* Nucleotides Isolates from *Enterobacter aerogenes* and *Citrobacter* -:*freundii*

تم تحديد وتحليل تتابع القواعد النتروجينية لجين *mrkA* المضخم والمعزول من جرثومتي *Entero. aerogenes* و *Citro. freundii* ثم مقارنة نتائج تتابعات القواعد النتروجينية للجين ضمن المركز الوطني لمعلومات التقنيات الإحيائية NCBI وذلك باستخدام برنامج BLAST الذي أظهر نسبة تشابه عالية مع الجين للجرثومتين قيد الدراسة إذ ظهرت نسبة التشابه في *Entero. aerogenes* (88%) كما موضح في الشكل (4-16) ، وللنوع *Citro. freundii* (85%) وكما موضح في الشكل (4-17) .

Hypothetical protein YA38_17605 [[Enterobacter] aerogenes]
Sequence ID: gb | KLF67990.1 | Length: 466 Number of Matches: 1
Range 1: 147 to 220

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
88.2bits(217)	1e-21()	Compositional matrix adjust.	65/74(88%)	68/74(91%)	0/74(0%)	+1

Features:

Query 4	PV ¹ LD ² SEEF ³ TTSVLILPFTLLCQKKE ⁴ IFSA ⁵ FTLR ⁶ QLV ⁷ PFgmlmasllvs ⁸ vlsgvtgsmgTL 18
Sbjct 147	PV ¹ SEEF ² TTSVLILPFTLLCQKKE ³ FSA ⁴ LR ⁵ +LVP ⁶ GMLMASLLVS ⁷ +LSGVTGSMGTL 20
Query 184	⁹ SMILPALIW ¹⁰ CALNY 225
sbjct 207	⁹ AMILPALIW ¹⁰ CALNY 220

الشكل (16-4) مقارنة تتابع الأحماض الامينية لجين *mrkA* لجرثومة *Entero. aerogenes* مع عزلة
قياسية ضمن برنامج NCBI .

Alignments

UDP-N-acetylmurarnate:L-alanyl-gamma-D-glutamyl-meso-diaminopimelate lligase [Citrobacter freundii]
Sequence ID: gb | KWZ88114.1 | Length: 447 Number of Matches: 1
Range 1: 159 to 253

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
177bits(449)	1e-54()	Compositional matrix adjust.	81/95(85%)	86/95(90%)	0/95(0%)	+1

Features:

Query 67	SKFVHYCPRTLILNNL ¹ DVN ² HADIFDDL ³ NAI ⁴ HKQFHHLVRIVPG ⁵ KG ⁶ KI ⁷ ILPENDINLKQ ⁸ VN ⁹ 246
Sbjct 171	SKFVHYCPRTLILNNL ¹ EF ² DHADIFDDL ³ KAI ⁴ QKQFHHLVRIVPG ⁵ G ⁶ RI ⁷ IYPENDINLKQ ⁸ TN ⁹ 230
Query 247	AMGCWSEQELVGEQGHWA ¹⁰ AKKL ¹¹ NADAS ¹² QWEV ¹³ LLV ¹⁴ G
Sbjct 231	AMGCWSEQELVGEQGHWA ¹⁰ AKKL ¹¹ TTDASE ¹² WEV ¹³ WLD ¹⁴ G

الشكل (17-4) مقارنة تتابع الأحماض الامينية لجين *mrkA* لجرثومة *Citro. freundii* مع
عزلة قياسية ضمن برنامج NCBI .

ترجمت نتائج تتابعات القواعد النتروجينية للجين قيد الدراسة إلى أحماض امينية وذلك باستخدام نفس البرنامج NCBI حيث وجد إن الأحماض الامينية للجين المعزول من *Entero. aerogenes* تبني بروتين افتراضي hypothetical protein وهذا ما أكده الباحث Ong وآخرون سنة (2008) إذ أشار إلى أن هذا الجين مسؤول عن تشفير بروتين الوحدة الرئيسية لبناء الهدب نوع 3 الافتراضي putative major subunit protein وهذا ما أكده أيضا الباحث Johnson وآخرون (2011) والباحث Allen وآخرون (1991) .

قورنت تتابع الأحماض الامينية مع عزلات قياسية باستخدام برنامج NCBI BLASTx وكما ملاحظ في الشكل (4-16) إذ لوحظ حدوث تسعة طفرات في نواتج الجين المعزول من جرثومة *Entero. aerogenes* وكما موضح في الجدول التالي :-

الجدول (4-38) الطفرات الحاصلة في جين *mrkA* في جرثومة *Enterobacter aerogenes*

رقم الطفرة	النيوكليوتيد المتغير	الحامض الاميني المتغير	التغير الحاصل	نوع الطفرة
1	TGG TTG	تربتوفان (W) ليوسين (L)	حذف	استبدال
2	GAA GAT	كلوتاميت (E) اسبارتيت (D)	خاطئة Missense	استبدال
3	TTT ATT	فينايل ألانين (F) ايسوليوسين (I)	خاطئة Missense	استبدال
4	TTT TTG	ليوسين (L) فينايل ألانين (F)	خاطئة Missense	استبدال
5	AAC ACC	اسبارجين (N) ثريونين (T)	خاطئة Missense	استبدال
6	CGG CAG	ارجنين (R) كلوتامين (Q)	اضافة	انتقال

استبدال	خاطئة Missense	فالين (V) فيناييل ألانين (F)	GTT TTT	7
انتقال	اضافة	ايسوليوسين (I) فالين (V)	ATT GTT	8
استبدال	خاطئة Missense	النين (A) سيرين (S)	GCG TCG	9

الطفرة الأولى :- أدت الطفرة الاولى الى تبديل القاعدة من الكوانين G إلى القاعدة النتروجينية الثايمين T مما أدى إلى تبديل الحامض الاميني من من التربتوفان Tryptophan(W) الى الليوسين Leucine(L).

الطفرة الثانية :- ادت الطفرة الى تبديل القاعدة من الادنين A إلى القاعدة النتروجينية الثايمين T مما أدى إلى تبديل الحامض الاميني من الكلوتاميت Glutamate(E) الى الحامض الاميني الاسبارتيت Asparatate(D) .

الطفرة الثالثة :- أدت الطفرة الى تبديل القاعدة من الثايمين T الى القاعدة النتروجينية الأدينين A مما أدى إلى تبديل الحامض الاميني من فينايل النين Phenylalanine(F) إلى ايسوليوسين Isoleucine(I) .

الطفرة الرابعة :- أدت الطفرة الى تبديل القاعدة من الثايمين T إلى القاعدة النتروجينية الكوانين G مما أدى إلى تبديل الحامض الاميني من الليوسين Leucine(L) إلى فينايل النين Phenylalanine(F).

الطفرة الخامسة :- أدت الى تبديل القاعدة من الادنين A إلى القاعدة النتروجينية السايروسين C مما أدى إلى تبديل الحامض الاميني من اسبارجين Asparagine(N) إلى الثريونين Threonine(T).

الطفرة السادسة :- أدت الى تبديل القاعدة من الكوانين G إلى القاعدة النتروجينية الادنين A مما أدى إلى تبديل الحامض الاميني من الارجنين Arginine(R) إلى الكلوتامين Glutamine(Q) .

الطفرة السابعة :- أدت الى تبدل القاعدة من الكوانين G إلى الثايمين T مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الفالين Valine(V) إلى فينيل الالنين Phenylalanine(F) .

الطفرة الثامنة :- أدت الى تبدل القاعدة من الأدنين A إلى الكوانين G مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من ايسوليوسين Isoleucine(I) إلى الفالين Valine(V).

الطفرة التاسعة :- أدت الى تبدل القاعدة من الكوانين G إلى الثايمين T مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من النين Alanine(A) إلى السيرين Serine(S) .

كما ترجمت أيضا تتابعات القواعد النتروجينية لنفس الجين المعزول من *Citro. freundii* إذ أن الأحماض الامينية لهذا الجين تقوم ببناء بروتين UDP-N-acetyl muramate:2-alanyl-gamma-D-glutamyl-meso-diamino pimelate ligase حيث أن من وظائف هذا البروتين هو تنظيم بناء الجدار الخلوي والالتصاق وبما انه هذا الجين مسؤول عن تشفير البروتين الذي يدخل في بناء الوحدة الرئيسة للهدب نوع 3 المسؤول عن الالتصاق بسطوح الخلايا أي كعامل ضراوة وتعزيز تكوين الغشاء الحيوي والامراضية وهذا ما أكده الباحث Burmølle وآخرون (2008) .

كما قورنت تتابع الأحماض الامينية مع عزلات قياسية باستخدام برنامج NCBI BLASTx وإذ لوحظ حدوث طفرة نقطية أيضا في (14) منطقة وكما موضح في الجدول الآتي :-

الجدول (4-39) الطفرات الحاصلة في جين *mrkA* في جرثومة *Citrobacter freundii*

رقم الطفرة	النوكليوتيد المتغير	الحامض الاميني المتغير	التغير الحاصل	نوع الطفرة
1	GAG GAT	كلوتاميت (E) اسبارتيت (D)	إضافة	استبدال
2	TTC GTC	الفينيل النين (F) فالين (V)	خاطئة Missense	استبدال
3	GAC AAC	اسبارتيت (D) اسبارجين (N)	خاطئة Missense	انتقال
4	AAA AAT	لايسين (K) اسبارجين (N)	خاطئة Missense	استبدال
5	CAG CAT	كلوتامين (Q) هستدين (H)	خاطئة Missense	استبدال
6	CAA AAA	كلوتامين (Q) لايسين (K)	إضافة	استبدال
7	AGA AAA	ارجنين (R) لايسين (K)	اضافة	انتقال
8	TTC CTG	تايروسين (Y) ليوسين (L)	خاطئة Missense	انتقال استبدال
9	ACG GTG	ثريونين (T) فالين (V)	خاطئة Missense	انتقال
10	ACC AAC	ثريونين (T) اسبارجين (N)	خاطئة Missense	استبدال
11	ACC GCC	ثريونين (T) النين (A)	خاطئة Missense	انتقال
12	GAG CAG	كلوتاميت (E) كلوتامين (Q)	اضافة	استبدال
13	TGG TTA	تربتوفان (W) ليوسين (L)	خاطئة Missense	استبدال انتقال
14	GAC GTC	اسبارتيت (D) فالين (V)	خاطئة Missense	استبدال

الطفرة الأولى :- أدت الى تبدل القاعدة من الكوانين G إلى القاعدة النتروجينية الثايمين T مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الكلوتاميت Glutamate(E) إلى اسبارتيت Asparatate(D) .

الطفرة الثانية :- أدت الى تبدل القاعدة من الثايمين T إلى القاعدة النتروجينية الكوانين G مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من فينايل النين Phenylalanine(F) إلى الفالين Valine(V) .

الطفرة الثالثة :- أدت الى تبدل القاعدة من الكوانين G وهي قاعدة بيورين إلى القاعدة النتروجينية الأدنين A وهي قاعدة بيورين أيضا وهذا النوع من الطفرات يسمى الانتقال Transition مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من اسبارتيت Asparatate(D) إلى اسبارجين Asparagine(N) .

الطفرة الرابعة :- أدت الى تبدل القاعدة من الأدنين A إلى القاعدة النتروجينية الثايمين T مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من اللايسين Lysine(K) إلى اسبارجين Asparagine(N) .

الطفرة الخامسة :- أدت الى تبدل القاعدة من الكوانين G إلى القاعدة النتروجينية الثايمين T مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الكلوتامين Glutamine(Q) إلى الهستيدين Histidine(H) .

الطفرة السادسة :- أدت الى تبدل القاعدة من السايروسين C إلى القاعدة النتروجينية الادنين A مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الكلوتامين Glutamine(Q) إلى اللايسين Lysine(K) .

الطفرة السابعة:- أدت الى تبدل القاعدة من الكوانين G إلى الأدنين A مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الارجينين Arginine(R) إلى اللايسين Lysine(K) .

الطفرة الثامنة:- حدثت الطفرة في موقعين في نفس الكودون إذ تبدلت القاعدة الاولى من الثايمين T إلى السايروسين C والثانية من السايروسين C إلى الكوانين G مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من التايروسين Tyrosine(Y) إلى الليوسين Leucine(L) .

الطفرة التاسعة :- حدثت الطفرة في موقعين في نفس الكودون إذ تبدلت القاعدة الاولى من الادنين A إلى الكوانين G والثانية من السايتوسين C إلى الثايمين T مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الثريونين Threonine(T) إلى الفالين Valine(V) .

الطفرة العاشرة :- أدت الى تبدل القاعدة من السايتوسين C إلى الادنين A مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الثريونين Threonine(T) إلى اسبارجين Asparagine(N) .

الطفرة الحادية عشرة :- أدت الى تبدل القاعدة من الادنين A إلى الكوانين G مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الثريونين Threonine(T) إلى الالنين Alanine(A) .

الطفرة الثانية عشرة :- أدت الى تبدل القاعدة من الكوانين G إلى السايتوسين C مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الكلوتاميت Glutamate(E) إلى الكلوتامين Glutamine(Q) .

الطفرة الثالثة عشرة :- حدثت الطفرة في موقعين في نفس الكودون إذ تبدلت القاعدة الاولى من الكوانين G إلى الثايمين T والثانية من الكوانين G إلى الادنين A مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من التربتوفان Tryptophan(W) إلى الليوسين Leucine(L) .

الطفرة الرابعة عشرة :- أدت الى تبدل القاعدة من الادنين A إلى الثايمين T مما أدى إلى تبدل الحامض الاميني من الاسبارتيت Asparatate(D) إلى الفالين Valine(V) .

الاستنتاجات

و

التوصيات

Conclusions

And

Recommendations

الاستنتاجات والتوصيات -: Conclusion and Recommendation

الاستنتاجات -: Conclusion

- 1- النوع الجرثومي الأكثر شيوعاً في التهاب الجيوب الأنفية المزمن هو *E.coli* يليه النوعان *Kleb.pneumoniae* و *Ser. marcescens* في دراستنا.
- 2- المضادان الحيويان الأكثر تأثيراً هما Ciprofloxacin و Norfloxacin يعقبهما وبنسبة اقل المضادان Gentamicin و Imipenem ولم تظهر أي من المضادات المعزولة. AM_{25} ، AMC_{30} ، APX_{30} ، AX_{25} ، P_{10U} و PY_{22} أي فعالية تجاه الأنواع المعزولة.
- 3- هناك علاقة وثيقة بين التهاب الجيوب الأنفية المزمن والحساسية إذ يزداد خطر الإصابة بوجود الحساسية .
- 4- لوحظ وجود الغشاء الحيوي والجراثيم المسببة للمرض في بعض الخزع النسيجية المأخوذة من الزوائد الأنفية للمرضى قيد الدراسة .
- 5- أعلى تكرار لإجراء عمليات التنظير الأنفي في شهر حزيران إذ بلغ عدد الذكور (3) والإناث (5) بينما اقل تكرار كان في شهر تموز إذ لم تجر أي عملية للتنظير الأنفي في هذا الشهر في مدينة الموصل.
- 6- وجدت علاقة بين جنس المرضى والمهنة في مرضى التهاب الجيوب الأنفية عند مستوى احتمالية (0.05).
- 7- قدرة جرثومتي *E.coli* و *Prot. mirabilis* المعزولة من حالات التهاب الجيوب الأنفية على البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية وبأحجام مختلفة .
- 8- هناك تأثير تثبيطي لمحلول الفضة النانوية المصنع من قبل جرثومتي *E.coli* و *Prot mirabilis* على الجراثيم المعزولة .
- 9- وجد جين *mrkA* في أربعة أنواع وهي *Enterob. aerogenes* ، *Moraxella spp* ، *Citro. freundii* و *E.coli* .
- 10- حدد تسلسل تتابع القواعد النروجينية لجين *mrkA* المعزول من جرثومة *Enterob. aerogenes* ثم ترجمت وتبين أنها مسؤولة عن تشفير الوحدة الرئيسية لبناء الهدب نوع 3 الافتراضي والمسؤول عن تكوين الغشاء الحيوي أما في جرثومة *Citro. freundii* فكانان الجينين مسؤول عن بناء بروتين UDP-N-acetyl muramate:2-alanyl-gamma-D-glutamyl-meso-

diamino pimelate ligase ومن وظائف هذا البروتين تنظيم بناء الجدار الخلوي والالتصاق أي كعامل ضراوة وتعزيز تكوين الغشاء الحيوي .

التوصيات Recommendation :-

- 1- عزل الجراثيم اللاهوائية المسببة التهاب الجيوب الأنفية المزمن .
- 2- التحري عن قدرة الأنواع الجرثومية الممرضة الأخرى على البناء الحيوي لدقائق الفضة النانوية .
- 3- قدرة جرثومتي *E.coli* و *Prot. mirabilis* على تكوين أنواع أخرى من الدقائق النانوية
- 4- التحري عن وجود الدقائق النانوية داخل الخلية الجرثومية الممرضة .
- 5- التحري عن باقي جينات العنقود mrk gene cluster والتي هي *mrkC* ، *mrkB* ، *mrkD* ، *mrkE* ، *mrkF* .
- 6- التحري عن العوامل الأخرى المؤدية لتكوين الغشاء الحيوي Biofilm ودورها في التهاب الجيوب الأنفية المزمن .
- 7- تقدير IL-4 و IL-5 في أنسجة الأنف والجيوب الأنفية لدى المرضى قيد الدراسة.
- 8- تقدير المستضد الإضافية Super antigen للمكورات العنقودية لدى المرضى قيد الدراسة .
- 9- عزل الفطريات الممرضة المصاحبة لالتهاب الجيوب الأنفية .

الملاحق

Appendixes

الملاحق :-

الجدول (1-2) وبائية التهاب الجيوب الانفية السنوية في دول العالم المختلفة .

Country/Region	Extrapolated Prevalence	Population Estimated Used
Chronic Sinusitis in North America (Extrapolated Statistics)		
USA	37,000,582	293,655,405 ¹
Canada	4,095,992	32,507,874 ²
Mexico	13,224,909	104,959,594 ²
Chronic Sinusitis in Central America (Extrapolated Statistics)		
Belize	34,391	272,945 ²
Guatemala	1,799,355	14,280,596 ²
Nicaragua	675,329	5,359,759 ²
Chronic Sinusitis in Caribbean (Extrapolated Statistics)		
Puerto Rico	491,142	3,897,960 ²
Chronic Sinusitis in South America (Extrapolated Statistics)		
Brazil	23,196,740	184,101,109 ²
Chile	1,993,818	15,823,957 ²
Colombia	5,331,157	42,310,775 ²
Paraguay	780,112	6,191,368 ²

Peru	3,470,582	27,544,305 ²
Venezuela	3,152,190	25,017,387 ²
Chronic Sinusitis in Northern Europe (Extrapolated Statistics)		
Denmark	682,087	5,413,392 ²
Finland	657,028	5,214,512 ²
Iceland	37,039	293,966 ²
Sweden	1,132,286	8,986,400 ²
Chronic Sinusitis in Western Europe (Extrapolated Statistics)		
Britain (United Kingdom)	7,594,109	60,270,708 for UK ²
Belgium	1,303,882	10,348,276 ²
France	7,613,451	60,424,213 ²
Ireland	500,164	3,969,558 ²
Luxembourg	58,298	462,690 ²
Monaco	4,066	32,270 ²
Netherlands (Holland)	2,056,093	16,318,199 ²
United Kingdom	7,594,109	60,270,708 ²
Wales	367,668	2,918,000 ²
Chronic Sinusitis in Central Europe (Extrapolated Statistics)		
Austria	1,030,020	8,174,762 ²
Czech Republic	157,018	1,0246,178 ²
Germany	10,385,501	82,424,609 ²

Hungary	1,264,079	10,032,375 ²
Liechtenstein	4,212	33,436 ²
Poland	4,866,920	38,626,349 ²
Slovakia	683,369	5,423,567 ²
Slovenia	253,445	2,011,473 ²
Switzerland	938,809	7,450,867 ²
Chronic Sinusitis in Eastern Europe (Extrapolated Statistics)		
Belarus	1,299,125	10,310,520 ²
Estonia	169,049	1,341,664 ²
Latvia	290,594	2,306,306 ²
Lithuania	454,595	3,607,899 ²
Russia	18,140,731	143,974,059 ²
Ukraine	6,014,242	47,732,079 ²
Chronic Sinusitis in the Southwestern Europe (Extrapolated Statistics)		
Azerbaijan	991,416	7,868,385 ²
Georgia	591,430	4,693,892 ²
Portugal	1,326,042	10,524,145 ²
Spain	5,075,378	40,280,780 ²
Chronic Sinusitis in Southern Europe (Extrapolated Statistics)		
Greece	1,341,588	10,647,529 ²
Italy	7,315,242	58,057,477 ²

Chronic Sinusitis in the Southeastern Europe (Extrapolated Statistics)		
Albania	446,645	3,544,808 ²
Bosnia and Herzegovina	51,358	407,608 ²
Bulgaria	947,264	7,517,973 ²
Croatia	566,605	4,496,869 ²
Macedonia	257,050	2,040,085 ²
Romania	2,816,799	22,355,551 ²
Serbia and Montenegro	1,364,063	10,825,900 ²
Chronic Sinusitis in Northern Asia (Extrapolated Statistics)		
Mongolia	346,665	2,751,314 ²
Chronic Sinusitis in Central Asia (Extrapolated Statistics)		
Kazakhstan	1,908,106	15,143,704 ²
Tajikistan	883,456	7,011,556 ²
Uzbekistan	3,327,712	26,410,416 ²
Chronic Sinusitis in Eastern Asia (Extrapolated Statistics)		
China	163,654,805	1,298,847,624 ²
Hong Kong s.a.r.	863,745	6,855,125 ²
Japan	16,043,958	127,333,002 ²
Macau s.a.r.	56,106	445,286 ²
North Korea	2,859,891	22,697,553 ²
South Korea	6,077,453	48,233,760 ²

Taiwan	2,866,479	22,749,838 ²
Chronic Sinusitis in Southwestern Asia (Extrapolated Statistics)		
Turkey	8,680,633	68,893,918 ²
Chronic Sinusitis in Southern Asia (Extrapolated Statistics)		
Afghanistan	3,592,723	28,513,677 ²
Bangladesh	17,808,900	141,340,476 ²
Bhutan	275,381	2,185,569 ²
India	134,198,900	1,065,070,607 ²
Pakistan	20,058,738	159,196,336 ²
Sri Lanka	2,508,050	19,905,165 ²
Chronic Sinusitis in Southeastern Asia (Extrapolated Statistics)		
East Timor	128,425	1,019,252 ²
Indonesia	30,045,072	238,452,952 ²
Laos	764,582	6,068,117 ²
Malaysia	2,963,832	23,522,482 ²
Philippines	10,866,454	86,241,697 ²
Singapore	548,590	4,353,893 ²
Thailand	8,173,056	64,865,523 ²
Vietnam	10,415,513	82,662,800 ²
Chronic Sinusitis in the Middle East (Extrapolated Statistics)		
Gaza strip	166,948	1,324,991 ²

Iran	8,505,404	67,503,205 ²
Iraq	3,197,211	25,374,691 ²
Jordan	707,011	5,611,202 ²
Kuwait	284,451	2,257,549 ²
Lebanon	475,929	3,777,218 ²
Saudi Arabia	3,250,288	25,795,938 ²
Syria	2,270,126	18,016,874 ²
United Arab Emirates	318,013	2,523,915 ²
West Bank	291,211	2,311,204 ²
Yemen	2,523,133	20,024,867 ²
Chronic Sinusitis in Northern Africa (Extrapolated Statistics)		
Egypt	9,590,795	76,117,421 ²
Libya	709,579	5,631,585 ²
Sudan	4,932,668	39,148,162 ²
Chronic Sinusitis in Western Africa (Extrapolated Statistics)		
Congo Brazzaville	377,753	2,998,040 ²
Ghana	2,615,386	20,757,032 ²
Liberia	427,220	3,390,635 ²
Niger	1,431,427	11,360,538 ²
Nigeria	2,236,544	12,5750,356 ²
Senegal	1,367,370	10,852,147 ²

Sierra leone	741,370	5,883,889 ²
Chronic Sinusitis in Central Africa (Extrapolated Statistics)		
Central African Republic	471,552	3,742,482 ²
Chad	1,201,856	9,538,544 ²
Congo kinshasa	7,347,946	58,317,030 ²
Rwanda	1,038,072	8,238,673 ²
Chronic Sinusitis in Eastern Africa (Extrapolated Statistics)		
Ethiopia	8,988,408	71,336,571 ²
Kenya	4,155,745	32,982,109 ²
Somalia	1,046,379	8,304,601 ²
Tanzania	4,544,920	36,070,799 ²
Uganda	3,325,172	26,390,258 ²
Chronic Sinusitis in Southern Africa (Extrapolated Statistics)		
Angola	1,383,297	10,978,552 ²
Botswana	206,543	1,639,231 ²
South Africa	5,600,507	44,448,470 ²
Swaziland	147,324	1,169,241 ²
Zambia	1,389,236	11,025,690 ²
Zimbabwe	462,654	1,2671,860 ²
Chronic Sinusitis in Oceania (Extrapolated Statistics)		
Australia	2,509,056	19,913,144 ²

New Zealand	503,220	3,993,817 ²
Papua New Guinea	682,955	5,420,280 ²

http://www.rightdiagnosis.com/c/chronic_sinusitis/stats-country.htm

المخطط (1-3) استمارة استبيان مرضى التهاب الجيوب الانفية

تسلسل القائمة : () اليوم : التاريخ : / /

❖ معلومات شخصية :

اسم المريض :		
العمر :	الجنس : () ذكر () أنثى	الوزن :
عنوان السكن :	الحالة الاجتماعية :	المهنة :

❖ معلومات تشخيصية :

وجود حساسية	() نعم () كلا	تاريخ الحساسية عند العائلة :
تعاطي المضادات الحيوية	() نعم () كلا	نوعها :
وجود جيوب أنفية	() نعم () كلا	فترة التهاب الجيوب :
وجود سعال	() نعم () كلا	نوعه : () جاف () رطب الوقت : () ليلاً () نهاراً () كلاهما
وجود ألم في الرأس	() نعم () كلا	نوع الألم :
وجود مضاعفات رئوية	() نعم () كلا	وقتها :
مدخن	() نعم () كلا	عدد سنوات التدخين :
وجود أمراض مناعية في العائلة	() نعم () كلا	نوعها :
وجود أمراض مزمنة	() نعم () كلا	نوعها :
وجود الإفرازات الأنفية	() نعم () كلا	لونها :
المفراس	() نعم () كلا	النتيجة :
وجود رائحة كريهة في الفم	() نعم () كلا	وجود حمى
لديه اكزما ،شري(حمى القش)	() نعم () كلا	وجود انحراف بالأنف
المعاناة من الربو	() نعم () كلا	لديه التهاب أذن وسطي،رئة بلعوم
انسداد الأنف	() نعم () كلا	العطاس
فقدان حاسة الشم	() نعم () كلا	وجود عملية سابقة
اللقاحات المأخوذة عند الطفولة	() BCG () شلل الأطفال () حصة مختلطة () حصة منفردة () التهاب كبد فيروسي () لقاحات أخرى	

الجدول (6-3) المرشد الملون لاختبار نظام RapID™ ONE

RapID™ ONE Color Guide

Test Test Test Test Prueba	Cavity Cavité Kammer-Nr. Pozetto Pocillo	Positive Reactions Réactions positives Positive Reaktionen Reazioni positive Reacciones positivas	Negative Reactions Réactions négatives Negative Reaktionen Reazioni negative Reacciones negativas
URE	1		
ADH	2		
ODC	3		
LDC	4		
TET	5		
LIP	6		
KSF	7		
SBL	8		
GUR	9		
ONPG	10		
βGLU	11		
βXYL	12		
NAG	13		
MAL	14		
ADON	18		
PRO	15		
GGT	16		
PYR	17		
IND	18		

Nota:
educat
Instruc
colors
shades

Remar
conçus
format
du pro
les tab
colorat

Anmer
Lehrm
Gerbr
verwei
Reakti
Farbsc
Reakti

Nota: l
format
Istruzi
reazio
sfumat
(-).

Nota: l
conce
su utili
produc
los día
colore

Rev. D:
Date d:
Überpr
Data re
Fecha

الجدول (7-3) تفسير نتائج اختبار لاختبار نظام RapID™ ONE

Table 2. Interpretation of RapID™ ONE System Tests*

Cavity #	Test Code	Reagent	Reaction		Comments
			Positive	Negative	
1	URE	None	Red or violet	Yellow or orange	Only the development of a distinct red or violet color should be scored as positive.
2	ADH	None	Bright purple or blue	Yellow, gray, straw, or yellow-green	Only the development of a distinct, bright purple or blue color should be scored as positive. Shades of yellow, gray, straw, brown, or green should be scored as negative.
3	ODC	None	Bright purple or blue	Yellow, gray, straw, or yellow-green	Only the development of a distinct, bright purple or blue color should be scored as positive. Shades of yellow, gray, straw, brown, or green should be scored as negative.
4	LDC	None	Bright purple or blue	Yellow, gray, straw, or yellow-green	Only the development of a distinct, bright purple or blue color should be scored as positive. Shades of yellow, gray, straw, brown, or green should be scored as negative.
5	TET	None	Yellow	Red or orange	Only the development of a distinct yellow color throughout the well should be scored as positive. Layers of yellow color should not be interpreted as positive. Cavities may be mixed with an applicator stick to aid reading.
6	LIP	None	Yellow	Red or orange	Only the development of a distinct yellow color throughout the well should be scored as positive. Layers of yellow color should not be interpreted as positive. Cavities may be mixed with an applicator stick to aid reading.
7	KSF	None	Yellow	Red or orange	Only the development of a distinct yellow color throughout the well should be scored as positive. Layers of yellow color should not be interpreted as positive. Cavities may be mixed with an applicator stick to aid reading.
8	SBL	None	Yellow	Red or orange	Only the development of a distinct yellow color throughout the well should be scored as positive. Layers of yellow color should not be interpreted as positive. Cavities may be mixed with an applicator stick to aid reading.
9	GUR	None	Yellow	Clear or tan	Only the development of a distinct yellow color should be scored as positive. Very faint yellow tints or equivocal colors should be scored as negative.
10	ONPG	None	Yellow	Clear or tan	Only the development of a distinct yellow color should be scored as positive. Very faint yellow tints or equivocal colors should be scored as negative.
11	βGLU	None	Yellow	Clear or tan	Only the development of a distinct yellow color should be scored as positive. Very faint yellow tints or equivocal colors should be scored as negative.
12	βXYL	None	Yellow	Clear or tan	Only the development of a distinct yellow color should be scored as positive. Very faint yellow tints or equivocal colors should be scored as negative.
13	NAG	None	Yellow	Clear or tan	Only the development of a distinct yellow color should be scored as positive. Very faint yellow tints or equivocal colors should be scored as negative.
14	MAL	None	Red	Yellow or orange	Only the development of a distinct red color should be scored as positive. Shades of orange should be scored as negative.
15	PRO	RapID™ ONE Reagent	Violet, purple, red, or dark pink	Clear, yellow, orange, or very pale pink	Any development of a violet, purple, or distinct red or dark pink color should be scored as positive. Pale orange or faint pinks should be scored as negative.
16	GGT	RapID™ ONE Reagent	Violet, purple, red, or dark pink	Clear, yellow, orange, or very pale pink	Any development of a violet, purple, or distinct red or dark pink color should be scored as positive. Pale orange or faint pinks should be scored as negative.
17	PYR	RapID™ ONE Reagent	Violet, purple, red, or dark pink	Clear, yellow, orange, or very pale pink	Any development of a violet, purple, or distinct red or dark pink color should be scored as positive. Pale orange or faint pinks should be scored as negative.
18	ADON	None	Yellow or very light orange	Red or dark red-orange	Any development of a yellow or yellow-orange color throughout the cavity should be scored as positive.
19	IND	RapID™ Spot Indole Reagent	Brown, black, or purple	Orange or red	Any development of a brown, black, or purple color should be scored as positive.

*NOTE: Panels should be read by looking down through the reaction cavities against a white background.

الجدول (33-4) قياسات محلول النانوي لجراثومة *E.coli* في محلول 3 مولار.

1:	-	
ID 2:	-	
Date:	09/14/2014	
Time:	14:24	
DB Rec:	13	
DB Name:	C:\Program Files\Microtrac FLEX 10.6.2\Databases\Dr. Mohamad Al Kilani.MDB	
Summary Data		
	MI(um):	0.599
	MN(um):	0.566
	MA(um):	0.588
	CS:	10.21
	SD:	0.0814
	PDI:	0.0465
	Mz:	0.597
	si:	0.0813
	Ski:	0.0373
	Kg:	0.977
User Defined Calculations		
	Name	Value
Formula 1:		
Formula 2:		
Formula 3:		
Percentiles		
	%Tile	Size(um)
	10.00	0.496
	20.00	0.527
	30.00	0.553
	40.00	0.575
	50.00	0.597
	60.00	0.618
	70.00	0.640
	80.00	0.666
	90.00	0.704
	95.00	0.740

Size Percent		
	Size(um)	%Tile
Peaks		
Dia(um)	Vol %	Width
0.5970	100.00	0.1629
Zeta Potential		
Mobility (u/s/V/cm):		5.3500
Zeta Potential (mv):		68.4800
Charge (fC):		0.28100
Conductivity (uS/cm):		14,627
Tabular Data		
Size(um)	%Chan	% Pass
6.54	0.00	100.00
5.50	0.00	100.00
4.62	0.00	100.00
3.89	0.00	100.00
3.27	0.00	100.00
2.750	0.00	100.00
2.312	0.00	100.00
1.944	0.00	100.00
1.635	0.00	100.00
1.375	0.00	100.00
1.156	0.00	100.00
0.972	0.47	100.00
0.818	12.79	99.53
0.687	45.51	86.74
0.578	33.95	41.23
0.486	6.97	7.28
0.409	0.31	0.31
0.344	0.00	0.00
0.2890	0.00	0.00
0.2430	0.00	0.00

0.2044	0.00	0.00
0.1719	0.00	0.00
0.1445	0.00	0.00
0.1215	0.00	0.00
0.1022	0.00	0.00
0.0859	0.00	0.00
0.0723	0.00	0.00
0.0608	0.00	0.00
0.0511	0.00	0.00
0.0430	0.00	0.00
0.0361	0.00	0.00
0.0304	0.00	0.00
0.02555	0.00	0.00
0.02148	0.00	0.00
0.01806	0.00	0.00
0.01519	0.00	0.00
0.01277	0.00	0.00
0.01074	0.00	0.00
0.00903	0.00	0.00
0.00760	0.00	0.00
0.00639	0.00	0.00
0.00537	0.00	0.00
0.00452	0.00	0.00
0.00380	0.00	0.00
0.00319	0.00	0.00
0.00269	0.00	0.00
0.00226	0.00	0.00
0.00190	0.00	0.00
0.00160	0.00	0.00
0.00134	0.00	0.00
0.00113	0.00	0.00
0.00095	0.00	0.00

الجدول (34-4) قياسات محلول النانوي لجرثومة *E.coli* في محلول 5 مولار.

ID 1:	-	
ID 2:	-	
Date:	09/14/2014	
Time:	14:35	
DB Rec:	14	
DB Name:	C:\Program Files\Microtrac FLEX 10.6.2\Databases\Dr. Mohamad Al Kilani.MDB	
Summary Data		
	MI(um):	0.692
	MN(um):	0.00326
	MA(um):	0.01413
	CS:	424.5
	SD:	0.544
	PDI:	5.3000
	Mz:	0.697
	si:	0.443
	Ski:	-0.78329
	Kg:	0.438
User Defined Calculations		
	Name	Value
Formula 1:		
Formula 2:		
Formula 3:		
Percentiles		
	%Tile	Size(um)
	10.00	0.00399
	20.00	0.00614
	30.00	0.01038
	40.00	0.944
	50.00	0.993
	60.00	1.025
	70.00	1.052
	80.00	1.081
	90.00	1.112
	95.00	1.134

Size Percent		
	Size(um)	%Tile
Peaks		
Dia(um)	Vol %	Width
1.0440	65.80	0.1346
0.0054	34.20	0.0064
Zeta Potential		
Mobility (u/s/V/cm):		63.8100
Zeta Potential (mv):		816.8000
Charge (fC):		5.60100
Conductivity (uS/cm):		14,696
Tabular Data		
Size(um)	%Chan	% Pass
6.54	0.00	100.00
5.50	0.00	100.00
4.62	0.00	100.00
3.89	0.00	100.00
3.27	0.00	100.00
2.750	0.00	100.00
2.312	0.00	100.00
1.944	0.00	100.00
1.635	0.00	100.00
1.375	0.00	100.00
1.156	56.23	100.00
0.972	9.06	43.77
0.818	1.40	34.71
0.687	0.00	33.31
0.578	0.00	33.31
0.486	0.00	33.31
0.409	0.00	33.31
0.344	0.00	33.31
0.2890	0.00	33.31

0.2430	0.00	33.31
0.2044	0.00	33.31
0.1719	0.00	33.31
0.1445	0.00	33.31
0.1215	0.00	33.31
0.1022	0.00	33.31
0.0859	0.00	33.31
0.0723	0.00	33.31
0.0608	0.00	33.31
0.0511	0.00	33.31
0.0430	0.00	33.31
0.0361	0.00	33.31
0.0304	0.00	33.31
0.02555	0.00	33.31
0.02148	0.00	33.31
0.01806	0.00	33.31
0.01519	1.09	33.31
0.01277	1.77	32.22
0.01074	2.54	30.45
0.00903	3.24	27.91
0.00760	3.75	24.67
0.00639	4.03	20.92
0.00537	4.07	16.89
0.00452	3.85	12.82
0.00380	3.36	8.97
0.00319	2.66	5.61
0.00269	1.87	2.95
0.00226	1.08	1.08
0.00190	0.00	0.00
0.00160	0.00	0.00
0.00134	0.00	0.00
0.00113	0.00	0.00
0.00095	0.00	0.00

الجدول (35-4) قياسات محلول النانوي لجراثومة *Proteus mirabilis* في محلول 3 مولار.

ID 1:	-	
ID 2:	-	
Date:	09/14/2014	
Time:	14:47	
DB Rec:	15	
DB Name:	C:\Program Files\Microtrac FLEX 10.6.2\Databases\Dr. Mohamad Al Kilani.MDB	
Summary Data		
	MI(um):	0.0965
	MN(um):	0.0800
	MA(um):	0.0820
	CS:	73.13
	SD:	0.00664
	PDI:	0.0325
	Mz:	0.0813
	si:	0.00683
	Ski:	0.2325
	Kg:	1.083
User Defined Calculations		
	Name	Value
Formula 1:		
Formula 2:		
Formula 3:		
Percentiles		
	%Tile	Size(um)
	10.00	0.0737
	20.00	0.0758
	30.00	0.0774
	40.00	0.0790
	50.00	0.0806
	60.00	0.0823
	70.00	0.0843
	80.00	0.0868
	90.00	0.0914
	95.00	0.0959

Size Percent		
	Size(um)	%Tile
Peaks		
Dia(um)	Vol %	Width
1.0600	1.50	0.1127
0.0805	98.50	0.0128
Zeta Potential		
Mobility (u/s/V/cm):		-41.4800
Zeta Potential (mv):		-530.8900
Charge (fC):		-0.29570
Conductivity (uS/cm):		13,822
Tabular Data		
Size(um)	%Chan	% Pass
6.54	0.00	100.00
5.50	0.00	100.00
4.62	0.00	100.00
3.89	0.00	100.00
3.27	0.00	100.00
2.750	0.00	100.00
2.312	0.00	100.00
1.944	0.00	100.00
1.635	0.00	100.00
1.375	0.00	100.00
1.156	1.54	100.00
0.972	0.00	98.46
0.818	0.00	98.46
0.687	0.00	98.46
0.578	0.00	98.46
0.486	0.00	98.46
0.409	0.00	98.46
0.344	0.00	98.46
0.2890	0.00	98.46

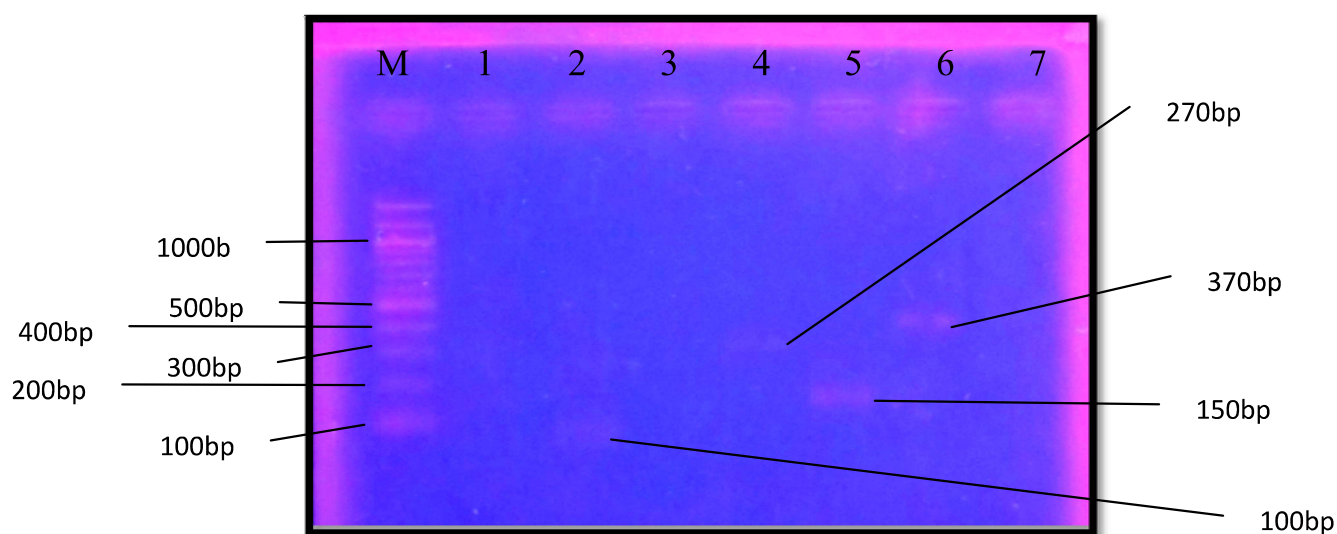
0.2430	0.00	98.46
0.2044	0.00	98.46
0.1719	0.00	98.46
0.1445	0.00	98.46
0.1215	0.00	98.46
0.1022	20.82	98.46
0.0859	74.32	77.64
0.0723	3.32	3.32
0.0608	0.00	0.00
0.0511	0.00	0.00
0.0430	0.00	0.00
0.0361	0.00	0.00
0.0304	0.00	0.00
0.02555	0.00	0.00
0.02148	0.00	0.00
0.01806	0.00	0.00
0.01519	0.00	0.00
0.01277	0.00	0.00
0.01074	0.00	0.00
0.00903	0.00	0.00
0.00760	0.00	0.00
0.00639	0.00	0.00
0.00537	0.00	0.00
0.00452	0.00	0.00
0.00380	0.00	0.00
0.00319	0.00	0.00
0.00269	0.00	0.00
0.00226	0.00	0.00
0.00190	0.00	0.00
0.00160	0.00	0.00
0.00134	0.00	0.00
0.00113	0.00	0.00
0.00095	0.00	0.00

الجدول (36-4) قياسات محلول النانوي لجرثومة *Proteus mirabilis* في محلول 5 مولار.

ID 1:	-	
ID 2:	-	
Date:	09/14/2014	
Time:	15:05	
DB Rec:	16	
DB Name:	C:\Program Files\Microtrac FLEX 10.6.2\Databases\Dr. Mohamad Al Kilani.MDB	
Summary Data		
	MI(um):	0.1725
	MN(um):	0.00118
	MA(um):	0.01210
	CS:	496.0
	SD:	0.01402
	PDI:	14.5800
	Mz:	0.0868
	si:	0.1672
	Ski:	0.487
	Kg:	23.10
User Defined Calculations		
	Name	Value
Formula 1:		
Formula 2:		
Formula 3:		
Percentiles		
	%Tile	Size(um)
	10.00	0.0674
	20.00	0.0753
	30.00	0.0789
	40.00	0.0823
	50.00	0.0856
	60.00	0.0892
	70.00	0.0934
	80.00	0.0986
	90.00	0.1178
	95.00	1.059

Size Percent		
	Size(um)	%Tile
Peaks		
Dia(um)	Vol %	Width
1.0600	9.70	0.1127
0.0857	78.70	0.0206
0.0018	9.20	0.0599
0.0010	2.40	0.0002
Zeta Potential		
Mobility (u/s/V/cm):		80.7600
Zeta Potential (mv):		1033.7100
Charge (fC):		0.61000
Conductivity (uS/cm):		14,131
Tabular Data		
Size(um)	%Chan	% Pass
6.54	0.00	100.00
5.50	0.00	100.00
4.62	0.00	100.00
3.89	0.00	100.00
3.27	0.00	100.00
2.750	0.00	100.00
2.312	0.00	100.00
1.944	0.00	100.00
1.635	0.00	100.00
1.375	0.00	100.00
1.156	9.74	100.00
0.972	0.00	90.26
0.818	0.00	90.26
0.687	0.00	90.26
0.578	0.00	90.26
0.486	0.00	90.26
0.409	0.00	90.26
0.344	0.00	90.26
0.2890	0.00	90.26

0.2430	0.00	90.26
0.2044	0.00	90.26
0.1719	0.00	90.26
0.1445	0.00	90.26
0.1215	5.01	90.26
0.1022	33.65	85.25
0.0859	36.84	51.60
0.0723	4.40	14.76
0.0608	0.00	10.36
0.0511	0.00	10.36
0.0430	0.00	10.36
0.0361	0.00	10.36
0.0304	0.00	10.36
0.02555	0.00	10.36
0.02148	0.00	10.36
0.01806	0.00	10.36
0.01519	0.00	10.36
0.01277	0.00	10.36
0.01074	0.00	10.36
0.00903	0.00	10.36
0.00760	0.00	10.36
0.00639	0.00	10.36
0.00537	0.00	10.36
0.00452	0.00	10.36
0.00380	0.00	10.36
0.00319	0.00	10.36
0.00269	0.00	10.36
0.00226	1.65	10.36
0.00190	3.69	8.71
0.00160	2.15	5.02
0.00134	0.52	2.87
0.00113	1.02	2.35
0.00095	1.33	1.33



الصورة (30-4) موقع حزم جين *mrkA* للعزلات *E. coli*، *Citrobacter freundii*

Moraxella spp و *Enterobacter aerogenes*

المصادر

References

المصادر العربية والأجنبية:-أ- المصادر العربية :-

1- الراوي، خاشع محمود (1979). المدخل إلى الإحصاء. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل.

ب-المصادر الاجنبية :-

Abbaszadegan, A., Ghahramani, Y., Gholami, A., Hemmateenejad, B., Dorostkar, S., Nabavizaden, M. and Sharghi, H.(2015).The effect of charge at the surface of silver nanoparticles on antimicrobial activity against gram positive and gram negative bacteria: a preliminary study. Journal of Nanomaterials:1-8.

Ahmed, T., Imdad, S. and Ashraf,S.(2012).Effect of size and surface ligands of silver (Ag) nanoparticles on water born bacteria. International J. of Theoretical and Applied Nanotechnology,1(1):111-116.

Akdis, C.A., Hellings, P.W. and Agache, I. (2015). Global Atlas of Allergic Rhinitis and Chronic Rhinosinusitis. European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Zwitserland. Pp. 18.

Alexander, S. K. and Strete, D. (2001). Microbiology: A photographic Atlas for the Laboratory. Benjamin Cummings, An imprint of Addison Wesley Longman, Inc. USA. Pp.71-90.

AL-Kawas, A.J.A.(2013).Immunological and Molecular Study of Silver Nanoparticles Produced by *Morganella morganii*.MSc Thesis, University of Babylon, Iraq.

Allen, B.L., Gerlach, G.F. and Clegg,S.(1991).Nucleotide sequence and function of mrk determinants for expression of type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae*.J. Bacteriol.,173(2):916-920.

AL-Mujaini, A., Wali, U. and Alkhabori, M.(2009).Functional endoscopic sinus surgery: indications and complications in the ophthalmic field. Oman Medical Journal, 24(2):70-80.

- Ansari, M., Khan, H., Khan, A., Malik, A., Sultan, A., Shahid, M., Shujatulla, F. and Azam, A. (2011). Evaluation of antibacterial activity of silver nanoparticles against mssa and mrsa on isolates from skin infections. *Biology and Medicine*, 3(2):141-146.
- Arjun, T.V. and Bholay A.D. (2012). Biosynthesis of silver nanoparticles and its antifungal activities. *Journal of Environmental research and Development*, 7(1):338-345.
- Bachert, C. and Holtappels, G. (2015). Pathophysiology of chronic rhinosinusitis, Pharmaceutical therapy options. *GMC Current Topics in Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*, 14:1-40.
- Bachert, C., and Zhang, N. (2012). Chronic rhinosinusitis and asthma: novel understanding of the role of IgE above atopy. *J. of International Medicine*, 272:133-143.
- Bachert, C., Pawankar, R., Zhang, L., Bunnag, C., Fokkens, W.J., Hamilos, D.L., Jirapongsananuruk, O., Kern, R., Meltzer, E.O., Mullol, J., Naclerio, R., Pilan, R., Rhee, C., Suzuki, H., Voegels, R. and Blaiss, M. (2014). Icon: chronic rhinosinusitis. *World Allergy Organization Journal*, 7:1-28.
- Bancroft, J.D., and Steven, S.A. (1982). *The Practice of Histological Techniques*. 2nd ed. Churchill Livingstone, UK, Pp. 110, 111, 188, 190, 371.
- Bandeira, M., Borges, V., Gomes, J.P., Duarter, A. and Jordao, L. (2017). Insights on *Klebsiella pneumoniae* biofilms assembled on different surfaces using phenotypic and genotypic approaches. *Microorganisms Journal*, 5(16):2-16.
- Bankar, A.V. (2016). Smart bio-palladium nano materials synthesis by green method. *Journal of Nanomedicine Research*, 3(4):1-3.
- Bartlett, J.M.S., and Stirling, D. (1998). *Pcr Protocol: Methods in Molecular and Biology*. Vol. 226, 2^{ed} ed., Humana Press Inc., Totowa, NJ. Pp. 54, 66-72.
- Basilio, F.M., Arantes, M.C., Ballin, A.C., Dallagnol, M.R., Bornbausen, M.B., Szkudlarek, D.C., Santos, M.C. and Mocellin, M. (2010). Efficacy of endoscopic sinus surgery in the treatment of chronic rhinosinusitis. *Otolaryngo. São Paulo*, 14(4):433-437.
- Bennett, P.N. and Brown, M.J. (2008). *Clinical Pharmacology*. 10th ed., Churchill Livingstone Elsevier, UK, Pp. 204-205.

- Beule, A.(2015).Epidemiology of chronic rhinosinusitis, selected factors, comorbidities, and economic burden. GMC Current Topics in Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery,14:1-31.
- Bezerra, T.F.P., Pádu, F.G.M., Ogawa, A.I., Gebrim, E.M.M.S., Saldiva, P.H.N.and Voegels,R.L.(2009).Biofilm in chronic sinusitis with nasal polyposis:pilot study.Braz. J. Otorhinolaryngol.,75(6):788-793.
- Bezerra, T.P.F., Piccirillo, J.F., Fornazieri, M.A., Pilan, R.R.M., Pinna, F.R., Padua, F.G.M. and Voegels, R.L.(2012).Assessment of quality of life after endoscopic sinus surgery for chronic rhinosinusitis.Braz. Journal.Otorhinolaryngol., 78(2):96-102.
- Brook, I.(2004).Discrepancies in the recovery of bacteria from multiple sinuses in acute and chronic sinusitis. J. of Medical Microbiology,53:879-885.
- Brook, I., and Frazier,H.(2005).Bacteriology of chronic maxillary sinusitis associated with nasal polyposis. J. of Medical Microbiology,54:595-597.
- Brooks, G.; Carroll, K.; Butel, J. and Morse, S. (2010). Jawetz, Melnick and Adelbergs Medical Microbiology. 25th ed. The McGraw-Hill Companies, Inc., New York. USA. Pp. 224-232.
- BurmØlle, M., Bahl, M.I., Jensen, L.B., SØrensen, S.J. and Hansen, L.H.(2008).Type 3 fimbriae encoding by the conjugative plasmid pOLA52,enhance biofilm formation and transfer frequencies in enterobacteriaceae strains . J. Microbiol.,154:187-195.
- Busaba, N.Y., Sin, H-J. and Salman,S.D.(2008).Impact of gender on clinical presentation of chronic rhinosinusitis with and without polyposis. J. of laryngology and Otology,122:1180-1182.
- Carceller, M.A. and Sandemetrio, R.H.(2014).Endocranial complications of endoscopic sinus surgery: learning from experience.International Journal of Otorhyngology and Head & Neck Surgery, 3: 298-303.
- Chaiyasate, S., Fooanant, S., Navacharoen, N., Roongrotwattanasiri, K., Tantilipikorn, P. and Patumanond, J.(2015).The complications of sinusitis in a tertiary care hospital: types, patient characteristics, and. International Journal of Otolaryngology,2015:1-5.

- Chen, H., Liu, X., Ni, C., Lu, Y., Xiong, G., Lu, Y. and Wang, S.(2012).Bacterial biofilm in chronic rhinosinusitis and their relationship with inflammation severity. *Auris Nasus Larynx J.*,39:169-174.
- Chidambaram, D., Hannebel, T., Taghavi, S., Mast, J., Boon, N.,and Fitts, J.P.(2010).Concomitant microbial generation of palladium nanoparticles and hydrogen to immobile chromate. *Environ. Sci. Technol J.*,44(19):76 35-7640.
- Chopra, H., Khurana, A.S., Munjal, M. and Due, K.(2006).Role of f.e.s.s. in chronic sinusitis . *Indian J. of Otolaryngol. and Head and Neck Surgery*,58(2):137-140.
- Christensen, S.M.(2016).Characterization of fimbrial adhesion of type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae*. MSc. Thesis, Roskilde University, Denmark.
- Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI. (2014). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty- Third Informational Supplement. M100-S24. 34(1):50-60.
- Costa, B.T., Nagao, A.T., Arslanian, C., Sampaio, M.M., Naspitz, C.K., Sorensen, R.U., Leiva, L. and Sole, D.(2005).Immunological evaluation of allergic respiratory children with recurrent sinusitis.*J. Pediat. Allergy Immunol.*,16:534-538.
- Deplanche, K., Caldelari, I., Mikheenko, I.P., Sargent, F., and MaCaskie,L.E.(2010).Involvement of hydrogenases in the formation of highly catalytic pd(0) nanoparticles by bioreduction of pd(II) using *Escherichia coli* mutant strains. *Microbiology J.*, 156: 2630-2640.
- Desrosiers, M., Evans, G.A., Keith, P.K., Wright, E.D., Kaplan, A., Bouchard, J., Ciavarella, A., Doyle, P.W., Javer, A.R., Leith, E.S., Mukherji, A., Schellenberg, R., Small, P. and Witterick,I.(2011).Canadian clinical practice guide lines for acute and chronic rhinosinusitis, Allergy, Asthma and Clinical Immunology J., 7(2): 1-38.
- Donlan, R.M. and Costerton, J.W.(2002).Biofilms survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Review J.*, 15(2): 167-193.

- Drzewiecka, W., Gaikwad, S., Laskowski, D., Dahm, H., Niedojadlo, J., Gade, A. and Rai, M.(2014).Novel approach towards synthesis of silver nanoparticles from bioreduction *Myxococcus virescens* and their lethality on pathogenic bacterial cell.Austin J. Biotechnol. Bioeng., 1(1): 1-7.
- Du, L.W., Jiang, H., Liu, X., and Wang, E.(2007).Biosynthesis of gold nanoparticles assisted by *Escherichia coli* DH5α and its application on direction electrochemistry of hemoglobin. Electrochem. Commun. J., 9: 1165-1170.
- Dulgaszewska, J., Leszczynska, M., Tatarska, A., Pastusiak, T. and Szyfter, W.(2016).The pathophysiological role of bacterial biofilm in chronic sinusitis. Eur. Arch. Otorhinolaryngol.,???
- Duse, M., Caminit, S. and Zicari, A.M. (2007). Rhiosinusitis: prevention strategies.Pediatr. Allergy Immunol.J., 18: 71-74.
- Elgorban, A.M., Rahman, A.N., Sayed, S.R., Hirad, A., Mostafa, A.A. and Bahkali, A.H.(2016).Antimicrobial activity and green synthesis of silver nanoparticles using trichoderma viride. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 30(1):1-6.
- Emanuel, I.A. and Shan, S.B.(2000). Chronic rhinosinusitis: Allergy and sinus computed tomography relationships. Otolaryngology Head and Neck Surgery, 123(6):687-691.
- Finegold, S. and Martin, W. (1982). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. C. V. Mosby Company. Missouri. USA. Pp. 619-648.
- Finegold, S.M., Flynn, M.J., Rose, F.V., Somer, H.j., Jakielaszek, C., Mcteague, M., Wexler, H.M., Berkowitz, E. and Wynne, B.(2002).Bacteriological findings associated with chronic bacterial maxillary sinusitis in adult.Clinical Infectious Disease J., 35: 428-433.
- Forbes, B.A., Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. (2007). Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology.2nd ed.Mosby,USA.
- Foreman, A., Jervis-Bardy, J., Boase, S.J., Tan, C. and Wormald, P.J.(2013).Noninvasive *Staphylococcus aureus* biofilm determination in chronic rhinosinusitis by detecting the expolysaccharide matrix component poly-n-acetylglucosamine.Int. Forum Allergy Rhinol. J., 3(2): 83-88.

- Foreman, A., Singhal, D., Psaltis, A.J. and Wormald, P.J.(2010).Targeted imaging modality selection for bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope.*, 120(2): 427-431.
- Fu, J.K., Liu, Y.Y., Gu, P.Y., Tang, D.L., Lin, Z.Y.,Yao, B.X. and Wen, S.Z.(2000).Spectroscopic characterization on the biosorption and bioreduction of Ag(I) by lactobacillus sp.A09.*Acta Physico-chimica Sinica J.*, 16: 779-782.
- Glesson, M., Browning, G.G., Burton, M.J., Klarke, R., Hibbert, J., Gones, N.S., Lund, V.J., Luxon, L.M. and Watkinson, J.C.(2008).Scott-Brown Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery.7th ed.,Vol.2,Edward Arnold Ltd, India.
- Green, B.J., Beezhold, D.H., Gallinger, Z., Barron, G.S., Melvin, R., Bledsoe, T.A., Kashon, M.L. and Sussman, G.L.(2014).Allergic sensitization in canada chronic rhinosinusitis patients.*Asthma and Clinical Immunology*, 10(15): 1-7.
- Hamilos, D.L.(2011).Chronic rhiosinusitis:epidemiology and medical management. *J.Allergy Clinical Immunol.*, 128(4): 693-707.
- Hashemi, M., Sadeghi, M.M., Omrani, M. and Torabi, M.(2005).Microbiology and antimicrobial resistance in chronic resistant rhiosinusitis with or without polyp after functional endoscopic sinus surgery,*J. of Research in Medical Science*, 10(3): 167-171.
- Hashemian, F., Hashemian, F., Molaali, N., Rouini, M., Roohi, E. and Torabian, S.(2016).Clinical effect of topical antifungal therapy in chronic rhinosinusitis:a randomized double-blind ,placebo-controlled trial of intranasal fluconazole. *EXCLI J.*, 15:95-102.
- Hassan, L.A., Elijan, A.T., Ojiefoh, O.C., Joseph, O., Sunday, B.O., Olugbenga, D.E. and Anuoluwapo, A.A.(2016).Biosynthesis of silver nanoparticles using *Gracinia kola* and its antimicrobial potential. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 10(1):1-7.
- He, S., Guo, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, J. and Gu, N.(2007).Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodopseudomonas capsulate*.*Material Letters*,61:3981-3987.

- He, S., Zhang, Y., Guo, Z. and Gu, N.(2008).Biological synthesis of gold nanoparticles using extract of *Rhodopseudomonas capsulate*. Biotechnology Progress, 24:476-480.
- Hellings, P.W., Fokkens, W.J., Akdis, C., Bachert, C.,Cingi, C., Loos, D.D., Gevaert, P. and Hox, V.(2013).Uncontrolled allergic rhinosinusitis: where do we stand today. European J. of Allergy and Clinical Immunology, 68: 1-7.
- Helms, S., and Miller, A.L.(2006).Natural treatment of chronic rhinosinusitis. Alternative Medicine Review.11(3):196-207.
- Hochstim, Ch.J., Choi, J.Y., Lowe, D., Masood, R. and Rise, D.H.(2010).Biofilm detection with hematoxylin-eosin staining. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg., 136(5):453-456.
- Hong, Ch. J., Tsang, A.C., Quinn, J.G., Bonaparte, J.P., Steven, A. and Kilty, SH.J.(2015).Anti-IgE monoclonal antibody therapy for the treatment of chronic rhinosinusitis: a systematic review .Systematic Reviews, 4:1-11.
- Hooper, D.C.(2000).New uses for new and old quinolones and the challenge of resistance. Clinical Infectious Diseases, 30:243-254.
- Husseiny, M.I., El-Aziz, M.A., Badr, Y. and Mahmoud, M.A.(2007).Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. Spectrochimica Acta Part A, 67:1003-1006.
- Iravani, S.(2014).Bacteria in nanoparticle synthesis: current status and future prospects. International Scholarly Research Notices, 2014:1-18.
- Jacoby, G.A.(2009).AmpC betalactamases.Clin. Microbiol.Rev., 22(1):161-182.
- Janeway, C.A.Jr., Travers, P., Walport, M. and Sholomchik, M.J.(2001).Immunobiology.5th ed.,Garland Science, New York.
- Johnson, J.G., Murphy, C.N., Sippy, J., Johnson, T.J. and Clegg, S.(2011).Type 3 fimbriae and biofilm formation are regulated by the transcriptional regulators MrkHI in *Klebsiella pneumoniae*.J of Bacteriology, 193 (14):3453-3460.
- Jreemich, S.K.(2015).Microbiological and immunological investigation of adult patients with chronic sinusitis.Journal of University of Thi-Qar, 10(1):48-59.
- Juan, F., Ayiheng, Q., Yuqin, F., Hua, Z., Jun, Y. and Bin, H.(2017).Risk factors of chronic rhinosinusitis after functional endoscopic sinus surgery.Med.Sci.Monit,23:1064-1068.

- Kamath, M.P., Shenoy, V., Mittal, N. and Sharma, N.(2013). Microbiological analysis of paranasal sinuses in chronic sinusitis-a south Indian costal study.Egyptian Journal of Ear, Nose, Throat and Allied Sciences, 14: 185-189.
- Kaplan, A.(2013). Canadian guidelines for chronic rhinosinusitis. Canadian Family Physician, 59: 1275-1281.
- Karthik, C. and Radha, K.V.(2012). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Enterobacter aerogenes*:a kinetic approach.Digest J. of Nanomaterials and Biostructures, 7(3):1007-1014.
- Kato, A.(2015). Immunopathology of chronic rhinosinusitis. Allergology International, .Canadian Family Physician, 64: 121-130.
- Keat, C.L., Aziz, A., Eid, A.M. and Elmarzugi, N.A.(2015). Biosynthesis of nanoparticles and silver nanoparticles. Bioresources and Bioprocessing Springer, 2: 1-11.
- Kennedy, D.W. and Hwang, P.H.(2012). Rhinology Diseases of the Nose, Sinuses and Skull Base.Thieme Medical Publishers eInc., New York.
- Kennedy, J.L. and Borish, L.(2013). Chronic sinusitis pathophysiology:the role of allergy.American Journal of Rhinology and Allergy, 27(5): 367-371.
- Kern, E.B., Sherris, D., Stergion A.M., Katz, L.M., Rosenblatt, L.C. and Ponikau, J.(2007).Diagnosis and treatment of chronic rhinosinusitis: focus on intranasal amphotericin b.Therapeutics and Clinical Risk Management, 3(2):319-325.
- Khalil, M.M.H., Ismail, E. and El-Magduob, F.(2012). Biosynthesis of Au nanoparticles using leaf extract. Arabian J. of Chemistry , 5:431-437.
- Khare, B. and Bose, S.(2005).Carbon nonotube based composites.J. Min. Met., 4(1):31-46.
- Kim, JS., Kuk, E., Yu, Kn., Kim, JH., Park, S., Lee, H., Kim, S., Park, Y., Hwang, C., Kim, Y., Lee, Y., Jeong, D. and Cho, M.(2007).Antimicrobial effect of silver nanoparticles . Nanomedicine , 3(1):95-101.
- Koh, D., Kim, H. and Han, S.(2009).The relationship between chronic rhinosinusitis and occupation: the 1998,2001 and 2005 korea national health and nutrition examination survey(knhanes).AM. J. Ind. Med., 52(3):179-184.

- Kostakioti, M., Hadifraugiskou, M., and Hultgern, S.J.(2013).Bacterial biofilm: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3:1-23.
- Lakshmipathy, M. and Nanda, A.(2013).Biocatalysts of silver nanoparticles synthesized using an environmental isolate.International J. of Chem. Tech. Research,5(3):1162-1168.
- Lee, C.(2001).Healthcare in rural china: a view from otolaryngology.J.R.Soc.Med.,94(4):190-193.
- Lee, T., Liang, Ch., Chang, P. and Huang, C.(2009).Risk factors protracted sinusitis in pediatrics after endoscopic sinus surgery. Auris Nasus Larynx.,36:655-660.
- Leo, G., Piacentini, E., Incorvaia, C., Consonni, D and Frati, F.(2007).Chronic rhinosinusitis and allergy. Pediatr. Allergy Immunol.,18:19-21.
- Leung, R.S. and Katial, R.(2008).The diagnosis and management of acute and chronic sinusitis. Primary Care Clinics, 35:11-24.
- Liu, L. and Zhao, J.(2013).Toroidal and Coiled Nanotubes, Syntheses and Applications of Carbon Nanotubes and Their Composites. INTECH, China,Pp.3-4.
- Liu, Y., Du, C.L., Lin, C., Chan, C.C., Chen, C. and Wang, J.(2002).Increased morbidity from nasopharyngeal carcinoma and chronic pharyngitis or sinusitis among worker at a newspaper printing company.Occup. Environ.Med.,59:18-22.
- Logeswari, P., Silambarasan, S. and Abraham, J.(2013). Eco friendly synthesis of silver nanoparticles from commercially available plant powders and their antibacterial properties: Scientia Iranica, 20(3):1049-1054.
- Luna, L.G.(1968).Manual of Histologic Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology.3rd ed.,McGraw Hill Company. New York,Pp.3.
- Luo, B., Feng, L., Jintao, D., Yafeng, L., Shixi, L., Nan, Z. and Bachert, C.(2013).Immunopathology features of chronic rhinosinusitis in high altitude dwelling Tibetans, Allergy and Rhinology.4(2):e69—e76.
- MaCassey, E. and Dawes, P.(2008).Biofilm and their role in otorhinolaryngological disease.J. of Laryngology and otology, 122:1273-1278.

- MacFaddin, J. (1985). Media for Isolation Cultivation Identification Maintenance of Medical Bacteria. Vol.1. Williams and Wilkins, Baltimore, MD. USA. Pp. 846-849.
- Malaty, J.(2016).Medical management of chronic rhinosinusitis in adults. Sinusitis, 1:76-88.
- Manonmani, V. and Juliet, V.(2011).Biosynthesis of Ag nanoparticles for the detection of pathogenic bacteria in food.International Conference on Innovation, Management and Service,14:307-311.
- Matsuno, O.,Ono, E., Takenaka, R., Okubo, T., Takatani, K., Nishitake, T., Hiroshige, S., Sawabe, T., Matsumoto, T., Miyazaki, E. and Kumamoto, T.(2008).Asthma and sinusitis: associated and implication. Int.Arch.Allergy Immunol.,147:52-58.
- Matsuuki, Y.,Ookushi, T., Asaka, D., Mori, E., Nakajima, T., Yoshida, T., Kojima, J., Chiba, S., Ootori, N. and Moriyma, H.(2008).Chronic rhinosinusitis: risk factor for the recurrence of chronic rhinosinusitis based on 5 year follow-up after endoscopic sinus surgery.Int. Arch. Allergy Immunol.,1:77-81.
- Mishra, D.K., Bhatta, R. and Verma, L.R.(2010). Quality of life after functional endoscopic sinus surgery. Nepalese Journal of ENT Head & Neck Surgery ,1(2): 6-8.
- Mouxing, F.,Qingbio, L., Daohua, S., Yinghua, L. and Ning, H.(2006).Rapid preparation a process of silver nanoparticles by bioreduction and their characterization. Chinese J. Chem. Eng.,14:114-117.
- Namasivayam, S.K.R., Genendra, K.E. and Reepika, R.(2010). Synthesis of silver nanoparticles by *Lactobacillus acidophilus* 01 strain and evaluation of its in vitro genomic DNA toxicity. Nano-Micro Letters,2(3):160-163.
- Naparstek, L., Carmeli, Y., Venezia, S. and Banin, E.(2014). Biofilm formation and susceptibility to gentamicin and colistin of extremely drug-resistant kpc-producing *Klebsiella pneumonia*. Journal Antimicrobial Chemother.,69:1027-1034.
- Narayanan, K.B. and Sakthivel, N.(2010).biological synthesis of metal nanoparticles by microbes.Adveances in Colloid an Interfase Science,156: 1-13.

- Nigro, J.F., Nigro, C.E.N., Marone, S.A.M., and Voegels, R.L.(2006).Microbiology of the maxillary and ethmoid sinuses patients with chronic rhinosinusitis submitted to functional endoscopic sinus surgery.Rev. Bars. Otorrinolaringol.,72(2): 217-222.
- Ong, C.-L., Ulett, G.C., Mabbett, A.A., Beatson, S.A., Webb, R.I., Monaghan,W., Nimmo, G.R., Looke, D.F., McEwan, A.G. and Schembri, M.A.(2008). Identification of type 3 fimbriae in uropathogenic *Escherichia coli* reveals a role in biofilm formation. J. Bacteriol.,190(3): 1054-1063.
- Ong, C.Y., Beatson, S.A., Totsika, M., Forestier, C., McEwan, A.G. and Schembril, M.A.(2010).Molecular analysis of type 3 fimbriae genes from *Escherichia coli* , *Klebsiella pneumonia* and *Citrobacter* species.BioMed Center Microbiology,10(183):1-12.
- Oteo, J., Cmpos, J., Lázaro, E., Cuevas, O., Cobos, S.G., Vázquez,M. and Abajo, F.J.(2008).Increased amoxicillin clavulanic acid resistance in *Escherichia coli* blood isolates, spain.Emerging Infectious Diseases.14(8): 1259-1262.
- Paju, S., Bernstein, J.M., Haase, E.M., and Scannapieco, F.A.(2003).Molecular analysis of bacterial flora associated with chronically inflamed maxillary sinuses.J. of Medical Microbiology, 52: 591-597.
- Pandak, N., Pensvic, I.P., Sekelj, A., Paradzik, M.T., Čabraja, I. and Miklaušić, B.(2011).Bacterial colonization or infection in chronic sinusitis.Wien. Klin. Wochenschr, 123: 710-713.
- Pandit, R.(2015).Green synthesis of silver nanoparticles from seed extract of *Brassica nigra* and its antibacterial activity. Nusantara Bioscience , 7(1):15-19.
- Parikh, R.Y., Singh, S., Prasad, B.L.V., Patole, M.S. and Sastry, M.(2008).Extracellular synthesis of crystalline silver nanoparticles and molecular evidence of silver resistance from *morganella* sp.:towards understanding biochemical synthesis mechanism.Bio.Chem.,9: 1415-1422.
- Patel, I., Patel, V., Thakkov, A. and Korthari, V.(2014).Microbial biofilms: Microbes in social mode. International J. of Agricultural and Food Research , 3 (2): 34-49.
- Payne, S.C., Borish, L. and Steinke, J.W.(2011).Genetics and phenotyping in chronic sinusitis.J. Allergy Clin. Immunol., 128(4): 710-720.

- Pereira, A.L., Silva, T.N., Gomes, A.C., Aravjo, A.C., and Giugliano, L.G.(2010).Diarrhea-associated biofilm formed by enteroaggregative *Escherichia coli* and aggregative *Citrobacter freundii* consortivm mediated by putative f pili.Bio. Med. Central, 10(57): 1-18.
- Phillips, C.D. and Mills, T.A.E.(1995).Chronic sinusitis: relationship between CT finding and clinical history of asthma, allergy,eosinophilia and infection. AJR. AM. J. Renotgenol., 164 (1): 185-187.
- Ramadan, H.H., Sanclement, J.A. and Thomas, J.G.(2005). Chronic rhinosinusitis and Biofilms. Otolaryngol. Head Neck Surg.,132: 414-417.
- Ramakrishnan, Y., Shields, R.C., Elbadawey, M.R. and Wilson, J.A.(2015). Biofilms in chronic rhinosinusitis: what is new and where next?. The Journal of Laryngology & Otology,129(8): 1-8.
- Reh, D., Mace, J., Robnson, JL. and Smith, TL.(2007).Impact of age on presentation of chronic rhinosinusitis and out comes of endoscopic sinus surgery.Am. J. Rhinol., 21(2):207-213.
- Rombaux, Ph., Collet, S., Hamoir, M., Eloy, Ph.; Bertrand, B., Jamart, F. and Gigi, J.(2005).The role of nasal cavity disinfection in the bacteriology of chronic sinusitis.Rhinology,43:125-129.
- Rosenfeld, R.M., Andes, D., Bhattacharyya, N., Cheung, D., Hamilos, D., Haydon, R.C. and Hudgins, P.A.(2007).Clinical practice guide line: adult sinusitis .Otolaryngology-Head and Neck Surgery,137(3):1-31.
- Rosenfeld, R.M., Piccirillo, J.F., Chandrsekhar, S.S., Brook, I., Kumar, M., Orlandi, R.R., Palmer, J.N., Patel, Z.M., Peters, A., Walsh, S.A. and Corrigan, M.D.(2015). Clinical practice guideline(update):adult sinusitis. Otolaryngology-Head and Neck Surgery,152(25):S1-S39.
- Saifuddin, N., Wong, C.W. and Yasumira, A.A.N. (2009).Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of bacteria with microwave irradiation.E-J of Chemistry, 6(1):61-70.
- Sanclement, J.A., Webster, P., Thomas, J. and Ramadan, H.H. (2005).Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic rhinosinusitis.Laryngoscope, 115:578-582.

- Sanderson, A.R., Leid, S.G. and Hunsaker, D.(2006).Bacterial biofilms on the sinus mucosa of human subjects with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*,116:1121-1126.
- Santos, T.S., Certal, V.F., Goncalres P. and Carvalho, C.(2014).Effectiveness omalizumab in the treatment of chronic rhinosinusitis with nasal polyps:syatematic review.*European scientific Journal*, 3:473-479.
- Sarber, K.M., Dion, G.R., Weitzel, E.K. and Mcmains, K.C.(2013).Approaching chronic sinusitis. *Southern Medical Journal*, 106(11):642-648.
- Sawosz, E., Chwalibog, A., Szeliga, J., Sawosz, F., Grodzik, M., Rupiewicz, M., Niemiec, T. and Kacprzyk, K. (2010).Visualization of gold platinum nanoparticles interacting with *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes*. *International J. of Nanomedicine*, 5:631-637.
- Schroll, C., Barken, K.B., Krogfelt, K.A. and Struve, C. (2010).Role of type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumonia* biofilm formation.*BMC Microbiology*, 10(179):1-10.
- Seedate, R.Y.(2015). The role of food allergy in rhinitis and nasal polyposis. *Current Allergy & Clinical Immunology*,28(2):14-17.
- Sekhon, B.S.(2010). Food nanotechnology-an overview. *Nanotechnology Science and Application*,3:1-15.
- Sethuraman, S., Arunachalam, A., Karthikeyan, M., Kumar, S.A., Manidipa, S. and Senthilraj, R. (2011).Antimicrobial sensitivity profile of *Serratia marcescens* strains isolated in government general hospital, Nagapattinam, Tamilnadu, India.*International J. of Preclinical and Pharmaceutical Research*, 2(1):7-11.
- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S.K. and Poinern, G.E.J.(2015).Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials J.*,8: 7278-7308.
- Shahrerdi, AR., Minaeian, S., Shahrerdi, HR., Jamalifare, H. and Noniaa, A.A.N. (2007).Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of enterobacteria: a novel biological approach. *Process Biochem.*, 42:919-923.
- Shaik, M.R., Ali, Z.J., Khan, M., Kuniyil, M., Assal, M.E., Alkathlan, H.Z., Warthan, A., Siddiqui, M.R., Khan, M. and Adil, S.F.(2017).Green synthesis

- and characterization of palladium nanoparticles using *Origanum vulgare* l. extract and their catalytic activity. *Molecules Journal*, 22(165):1-12.
- Shan, S.A., Ishinaga, H. and Takeuchi, K.(2016).Characterization of eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Journal of Inflammation*, 13:1-9.
- Shikara, M. (2009).Genetic Engineering. 4th year. Chemical Biotechnology Division Applied Sciences Department, University of Technology, Bagdad. Iraq. Pp. 33-38.
- Shivakrishna, P., Krishna, M.R.P. and Charya, M.A.S.(2013).Synthesis of silver nanoparticles from marine bacteria *Pseudomonas aerogenosa*. *Octa Journal of Biosciences*, 1(2):108-11.
- Shusterman,D.(2015).The nasal nitric oxide response to external acoustic energy: a pilot study of sampling dynamic.*Sinusitis*.,1:13-23.
- Sidell, D., Shapiro, NL. and Bhattacharyya, N.(2013).Obesity and the risk of chronic rhinosinusitis, allergic rhinitis and acute otitis media in school-age children.*Laryngoscope*.,1 23(10): 2360-2363.
- Sinha, M. and Srinivasa, H.(2007).Mechanisms of resistance to carbapenems in meropenem resistant acinetobacter isolates in clinical samples.*Indian J. Med. Microbiol.*, 25(2):121-125.
- Sousa, C., Botelho, C. and Oliveira, R.(2011).Nanotechnology applied medical biofilms control. *Formatex Research Center*, 22(31):878-888.
- Spoering, A. and Lewis, K.(2001).Biofilm and planktonic of *Pseudomonas aerogenosa* have similar resistance to killing by antimicrobials.*J. Bacteriol*, 183(23):6746-6751.
- Steinke, J.W. and Wilson, J.M.(2016).Aspirin-exacerbated respiratory: pathophysiological in sights and clinical advances . *Journal of Asthma and Allergy*, 9:37-43.
- Tamashiro, E., Autunes, M.B., Palmer, J.N., Cohen, N.A. and Lima, W.T.(2009).Implications of bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis.*Brazilian J. of Infectious Diseases*, 13(3):232-235.
- Tan, P.Y. and Poopalalingam, R.(2014).Anaesthetic concerns for functional endoscopic sinus surgery.*Proceeding of Singapore Healthcare*, 23(3):246-253.

- Taylor, E. and Webster, T.J.(2011).Reducing infections through nanotechnology and nanoparticles.International J. of nanomedicine, 6:1463-1473.
- Tokunaga, T., Sakashita, M., Haruna, T., Asaka, D., Takeno, S., Ikeda, H., Nakayama, T., Seki, N., Ito, S., Murata, J., Sakuma, Y., Yoshida, N., Terada, T., Morikura, I., Sakaida, H., Kondo, K., Teraguchi, K., Okano, M., Otori, N., Yoshikawa, M., Hirakawa, K., Haruna, K., Himi, K., Ikeda, K., Ishitoya, J., Iino, Y., Kawata, Y., Kawauchi, H., Kobayashi, M., Yamasoba, T., Miwa, T., Urashima, M., Tamari, M., Noguchi, E., Ninomiya, T., Imoto, Y., Morikawa, T., Tomita, K., Takabayashi, T. and Fujieda, S.(2015). Novel scoring system and algorithm for classifying chronic rhinosinusitis: the jesres study. European J. of Allergy and Clinical Immunology , 70:995-1003.
- Trombitas, V., Nagy, A.A., Vald, D., Aranka, I. and Albu, S.(2015).Biofilms and nasal wound healings in postsurgical patients with chronic rhinosinusitis-a review of literature.Romanian Journal of Rhinology, 5(20):203-208.
- Udayasri, B. and Radhakumari, T.(2016).Microbial etiology of chronic sinusitis. Journal Dental and Medical sciences, 15(1):118-124.
- Van , C.P., Van, H.H. and Bachert, C.(2006).Pathogenesis of chronic rhinosinusitis.Curr. Allergy Asthma Rep.,6(6):487-494.
- Varaldo, P.E., Montanari, M.P. and Gioranetti, E.(2009).Genetic elements responsible for erythromycin resistance in streptococci.Antimicrobial Agents Chemother., 53(2):343-353.
- Weber, R.K. and Hosemann, W.(2015).Comprehensive review on endonasal endoscopic sinus surgery.GMC Current Topics in Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, 14:1-108.
- White, A.R., Kaye, C., Poupard, J., Pypstla, R., Woodnutt, G.and Wynne, B.(2004).Augmentin (amoxicillin / clavulanate) in the treatment of community-acquired respiratory tract infection:a review of the continuing development of an innovative antimicrobial agent.J. of Antimicrobial Chemotherapy,35:i3-i20.
- Willey, J., Sherwood, L.M. and Woolverton, Ch.J.(2014). Prescott Microbiology 9th ed., McGraw-Hill, USA, 150-151.
- Windt, W., Boon, N., Vandenbulcke, J., Rubberecht, L., Prota, F., Mast, J., Hennebel, T. and Verstraete, W.(2006).Biological control of the size and reactivity of catalytic Pd(0) produced by *Shewanella oneidensis*.Anton Leevw Int. J.,90(4):377-389.

- Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006). *Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins. USA. Pp. 74.
- Wormald, P.J.(2005). *Endoscopic Sinus Surgery Anatomy, Three Dimensional Reconstruction, and Surgical Technique*. Theme Medical Publishers, New York, Pp. :1.
- Wu, H., Moser, C., Wang, H., HØiby, N. and Song, Z.(2015).Strategies for combating bacterial biofilm infections. *International Journal of Oral science*, 7:1-7.
- Yoon, B., Ha, U., Sohn, D. and Lee, S.(2011).Anti inflammatory and antimicrobial effect of nanocatechin in a chronic bacterial prostatitis rat model. *J. Infect. Chemother.*, 17:189-149.
- You, H., Zhuge, P., Li, D., Shao, L., Shi, H. and Du, H.(2011).Factors affecting bacterial biofilm expression in chronic rhinosinusitis and the influences on prognosis. *American Journal of Otolaryngology*, 32:583-590.
- Zernotti, ME., Angle, V.N., Roques, R.M., Baena, CE., Arce, M. J., Albesa, I. and Paraje, MG.(2010).Evidence of bacterial biofilms in nasal polyposis.*J. Investig Allergol Clin. Immunol.*, 20(5):380-385.
- Zhang, H., Li, Q.L.Y., Sun, D., Lin, Y. and Deng, Y.(2005).Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Technol. Biotechnol.*, 80:2850-2864.
- Zimmerli, W. and Sandi, P.(2011).Pathogenesis of implant associated infection:the role the host. *Semin. Immuono. Pathol. J.*, 33:295-306.
- Zurak, K., Vagić, D., Drvis, P., Prohaska, P., Dzidic, S. and Kalogjera, L.(2009).Bacterial colonization and granulocyte activation in chronic maxillary sinusitis inasthmatics and non asthmatics. *J.Med.Microbiol.*,58:1231-1235.

**Ministry of Higher
Education and Scientific
Research
University of Mosul
College of Science**



**Detection of Bacterial Etiology of Chronic
Rhinosinusitis and its Ability to Produce Silver
Nanoparticles and Molecular Detection of *mrk A*
Gene**

**A Thesis Submitted to the Council of College Of Science /
University of Mosul in Partial Fulfillment of the
Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy
In
Biology / Micobiology**

**By
Enas Abdul-Muniem H. Al-Layla**

**Supervised by
Prof. Dr. Basima Ahmed A. Elias**

Abstract

Thirty five samples were collected from chronic sinusitis patients under endoscopic sinus surgery who were admitted to AL-Jumhuri, AL-Rabie private, AL-Zahrawi private hospitals in Mosul city from March 2013 to March 2014. All isolates were identified to species level depending on morphological, biochemical and physiological tests and using RapID™ ONE System Panel, API Staph and API E20 kits. The high percentage of *Escherichia coli* species were in females it was (15%) while *Klebsiella pneumoniae* were in males (13.3%).

The following species were isolated from males too:-

Citrobacter freundii, *Moraxella* spp., *Serratia marcescens*, *Staphylococcus capitis*, *Staph. lugdunensis*, *Staph. saprophyticus* and *Staph. sciuri* in ratio (6.7%) for each species, while in females :- *Acinetobacter lwoffii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Staph. epidermidis*, *Staph. hominis*, *Staph. warneri* and *Staph. xylosus* in ratio (6.7%) too.

All isolated species were sensitive to Norfloxacin(NOR₁₀) and Ciprofloxacin(CIP₁₀) followed by Gentamicin(CN₁₀) and Imipenem(IMP₁₀). The species were sensitive to following antibiotics in different ratios :Cefotaxime(CTX₁₀), Cephalothin(KF₃₀), Cloxacillin(CX₁₀), Cefatazidime(CAZ₁₀) and Cefixim(CFM₅), While all isolates were resistant to Ampicillin(AM₂₅), Amoxillin/Clavulanic acid(AMC₃₀), Ampicillin/Cloxacillin(APX₃₀), Amoxillin(AX₂₅), Carpenicillin(PY₂₅), Meropenem(MEM₁₀) and Erythromycin(E₁₅).

Total IgE was estimated and the high percentages was (46.7%), (45%) in males and females respectively. Biofilm was existed in nasal polyps biopsies at (17.14%).

The ability of species to biosynthesize silver nanoparticles(SNP) was investigated too. *E. coli* and *Prot. mirabilis* synthesized SNP and identified by using FTIR and Zeta analyzer, *E. coli* biosynthesized two types of nanoparticles, the first is in (0.006)nanometer and the other in (1)nm in silver nitrate solution(5)Mollar, while the same bacteria biosynthesized one type with size less than (1)nm in silver nitrate solution(3)Mollar.

Prot. mirabilis biosynthesized three types of nanoparticles, the first is at (0.002)nm, the second is at(0.1)nm and the third is at (1)nm in silver nitrate

solution(5)Mollar, while the same bacteria biosynthesized one type (0.1)nm in silver nitrate solution(3)Mollar.

The antibacterial activity of synthesized silver nanoparticle solutions were tested against following bacterial species:- *Citro. freundii*, *E.coli*, *Proteus mirabilis*, *Staph. epidermidis*, *Staph.hominis*, *Staph.lugdunensis*, *Staph.warneri*.

Entero. Cloaceae was inhibited by all solutions except (7-3M),while *Kleb.pneumoniae*, *Moraxella spp.*and *Staph.xylosus* were moderate sensitive to tested solutions and *Acineto.lowffii*, *Enter.aerogenes*, *Serr. marcescens*, *Staph.capitis*, *Staph.saprophyticus* and *Staph.,sciuri* were resistant to tested solutions.

PCR was done using plasmids isolated from species under study using primers for *mrkA* gene .It was found in four species *Moraxella spp.*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* and *Citrobacter freundii*.

Finally nucleotides sequencing were done for isolated *mrkA* gene and homology searches were conducted between the sequences of standard gene BLAST program which is available at the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and Basic Local Alignment Search program Tool(BLAST).We found variations appear as Transversion mutation which cause change Tryptophan amino acid to Leucine and there was Transition mutation which cause change Aspartite amino acid to Asparagine.