

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

BOJAN M. PAVLOVIĆ

PREDIKTIVNI ZNAČAJ KLINIČKIH I
MIKROBIOLOŠKIH KARAKTERISTIKA NOSNO-
SINUSNE POLIPOZE NA ISHOD OPERATIVNOG
LEČENJA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

BOJAN M. PAVLOVIĆ

PREDICTIVE VALUE OF CLINICAL AND
MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF
SINONASAL POLIPOSIS ON POSTOPERATIVE
OUTCOME

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

Mentor disertacije: Prof. dr Jovica Milovanović, vanredni profesor, Katedra za otorinolaringologiju sa maksilofacijalnom patologijom, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komentor disertacije: Prof. dr Ivana Ćirković, vanredni profesor, Katedra za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije:

Prof.dr Vojko Đukić, redovni profesor, Katedra za otorinolaringologiju sa maksilofacijalnom patologijom, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof.dr Slobodanka Đukić, redovni profesor, Katedra za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof dr Rade Kosanović, redovni profesor, Katedra za otorinolaringologiju, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

REZIME

PREDIKTIVNI ZNAČAJ KLINIČKIH I MIKROBIOLOŠKIH KARAKTERISTIKA NOSNO-SINUSNE POLIPOZE NA ISHOD OPERATIVNOG LEČENJA

Hronični rinosinuzitis (engl. chronic rhinosinusitis, CRS) je definisan kao sindrom koji se karakteriše perzistirajućom inflamacijom mukoze nosa i paranazalnih sinusa uz postojanje odgovarajuće simptomatologije koja negativno utiče na kvalitet života i remeti dnevne aktivnosti. Sa ciljem naglašavanja različite patofiziologije u zavisnosti od endoskopskog nalaza, podeljen je u dve grupe-formu sa i bez polipa. U moguću etiologiju su uključeni mikrobiološki faktori među kojima je i bakterijski biofilm. Kod velikog broja pacijenata nakon hirurškog lečenja, funkcionalne endoskopske hirurgije sinusa (eng. Funcional Endoscopis sinus Surgery- FESS), simptomatologija nestane ili se značajno redukuje. Ipak kod nekih, ona perzistira i dalje. Rezultati istraživanja govore da postojanje biofilma predstavlja negativan prediktor u ishodu lečenja. Brojne studije su pokazale da se više od 99% bakterija u prirodi nalazi u biofilmovima, i da je upravo biofilm odgovoran za patogenezu 80% hroničnih bolesti.

U istraživanju je ispitivan odnos kliničkih karakteristika ispitanika sa nosno-sinusnom polipozom i mikrobioloških karakteristika *in vitro* formiranih biofilмова bakterijskih uzoraka sa sinusne mukoze. Ispitivane su mikrobiološke karakteristika *in vitro* formiranih biofilмова uzoraka sa sinusne mukoze na uspešnost postoperativnog ishoda i kvalitet života i uticaj atmosfere inkubiranja, osetljivosti na antibiotike, efekata kortikosteroida i slanog rastvora na sposobnost formiranja i produkciju biofilma. Najčešće izolovana bakterija iz uzetog materijala je *S. aureus* i *S. Epidermidis*. Preoperativne kliničke karakteristike koristeći Lund-Kennedy i Lund Mckey skalu ne razlikuju se između grupa pacijenata čiji uzorci formiraju biofilm različitih karakteristika u *in vitro* uslovima. Niži nivo životne energije, slabije opšte zdravstveno stanje i lošije socijalno funkcionisanje imaju pacijenti čiji uzorci intenzivnije formiraju biofilm u *in vitro* uslovima.

KLJUČNE REČI: polipi nosa, hronični rinosinuzitis, bakterijski biofilm, kvantifikacija biofilma, kvalitet života.

NAUČNA OBLAST: Medicina

UŽA NAUČNA OBLAST: Otorinolaringologija

ABSTRACT

PREDICTIVE VALUE OF CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SINONASAL POLIPOSIS ON POSTOPERATIVE RESULTS

Chronic rhinosinusitis (CRS) is defined as a syndrome characterized by persistent inflammation of the mucosa of the nose and paranasal sinuses with symptoms that adversely affect quality of life and disrupts daily activities. Highlighting the different pathophysiology, based on the endoscopic findings, CRS is divided into two groups-form with and without polyps. The possible etiology include microbiological factors as the bacterial biofilm. A significant number of patients after surgical treatment, functional endoscopic sinus surgery (FESS), symptomatology is resolved or significantly reduced. Nevertheless, for some patients symptomatology still persists. The results of previous research show that the presence of a biofilm is a negative predictor of the treatment. Numerous studies have shown that more than 99% of the bacteria in nature is in biofilms, and pathogenesis of over 80% of chronic diseases is connected with biofilm presence. The study analysed the relationship of clinical characteristics of patients with sino-nasal polyposis and microbiologic characteristics of biofilms formed *in vitro*. Microbiological characteristics of samples taken during surgery were investigated *in vitro* and influence on the postoperative outcomes and quality of life. Influence of the atmosphere of incubation, sensitivity to antibiotics, the effects of corticosteroids and saline solution on the ability of biofilm formation and production were investigated, too. The most frequently isolated bacteria from the material taken was *S. aureus* and *S. epidermidis*. Preoperative clinical characteristics using the Lund-Kennedy and Lund McKey scale did not differ between the groups of patients whose samples form an intensive biofilm *in vitro*. The lower level of life energy, poor general health and poorer social functioning of patients whose samples have a more intense form biofilm *in vitro*.

KEYWORDS: nasal polyposis, chronic rhinosinusitis, bacterial biofilm, biofilm quantification, quality of life.

SCIENTIFIC AREA: Medicine.

SPECIFIC SCIENTIFIC AREA: Otorhinolaryngology.

SADRŽAJ

1.UVOD.....	1
1.1.Hronični rinosinuzitis	1
1.2.Nosno sinusna polipoza	7
1.3.Biofilm.....	13
1.4.Kvalitet života u vezi sa zdravljem.....	20
1.5.FESS-Funkcionalna endoskopska hirurgija sinusa.....	23
2.CILJEVI ISTRAŽIVANJA	32
3.MATERJAL I METODE	33
3.1.Tip studije i selekcija ispitanika	33
3.2.Instrumenti merenja	33
3.3.Način praćenja ispitanika.....	37
3.4.Statistička analiza	37
4.REZULTATI.....	39
4.1.Demografski podaci ispitanika	39
4.2.Rezultati upitnika SF- 36	39
4.3.Vrednosti VAS skorova.....	61
4.4.Vrednosti endoskopskih skorova.....	64
4.5.Rezultati upitnika SNOT 22	67
4.6.Uticaj antibiotka na biofilm.....	70
4.7.Uticaj različitih uslova inkubacije na formiranje biofilma	71
4.8.Analiza povezanosti kiničkih karakteristika i osobina formiranih biofilmova.....	72

4.9.Ispitivanje osetljivosti bakterija na antibiotike	72
4.10.Biofilm na silikonskim nazalnim splintovima.....	76
5.DISKUSIJA.....	78
6.ZAKLJUČCI	86
7.LITERATURA	87

1.UVOD

1.1.HRONIČNI RINOSINUZITIS

Hronični rinosinuzitis je definisan kao sindrom koji se karakteriše perzistirajućom inflamacijom mukoze nosa i paranazalnih sinusa uz postojanje odgovarajuće simptomatologije.¹ Inflamacija sluznice je povezana sa faktorima sredine. U retkim slučajevima, kao u Wegenerovoj granulomatozi i sarkoidozi, hronična inflamacija postoji i bez stimulusa sredine.

Idiopatski hronični rinosinuzitis u zavisnosti od endoskopskog nalaza podeljen je u dve grupe : Hronični rinosinuzitis (CRS) bez polipa i CRS sa polipima.

Forma bez polipa najčešće je povezana sa obstrukciom u predelu ostiometalnog kompleksa, dok je oblik sa polipima povezan sa difuznim odgovorom mukoze.¹

Malobrojni su istraživači koji ove oblike smatraju istom bolešću samo različitog intenziteta i trajanja.²⁻⁴ Međutim većina istraživača smatra da je upalna reakcija u idiopatskom CRS posledica poremećene interakcije domaćina i spoljašnje sredine.⁵ Identifikacija spoljašnjih agenasa, koji vode do razvoja sekundarnih inflamatornih mehanizama bili su u fokusu istraživanja tokom niza godina.

Klinički, hronični rinosinuzitis karakteriše bar dva simptoma od kojih bar jedan mora biti opstrukcija nosa ili sekrecija uz¹:

± bol ili osećaj pritiska u licu

±smanjenje ili gubitak osećaja mirisa

U okviru hroničnog rinosinuzitisa endoskopski nalaz se može karakterisati postojanjem:

- Mukopurulentne sekrecije , uglavnom u srednjem nosnom hodniku
- Edemom sluznice najčešće u srednjem nosnom hodniku
- Nosnih polipa

Kompjuterizovana tomografija (CT) može prikazivati promene u predelu ostiometalnog kompleksa ili u sinusima.

Na osnovu trajanja simptomatologije na hronični rinosinuzitis se može podeliti na:

Akutni - ukoliko simptomati traju kraće od 12 nedelja ili

Hronični - ukoliko simptomi traju jednako ili duže od 12 nedelja

U odnosu na endoskopski nalaz može se podeliti na formu bez ili sa polipima (CRSsNP i CRSwNP)

Forma bez polipa najčešće je povezana sa obstrukciom u predelu ostiometalnog kompleksa, dok je oblik sa polipima povezan sa difuznim odgovorom mukoze.

Danas rinosinuzitisi predstavljaju značajan zdravstveni problem. Postojali su različiti vodiči, stavovi i konsenzus dokumenti. U cilju sagledavanja naučnih činjenica i definisanja sadašnjeg saznanja koja bi bila usmerena ka pravim preporukama u dijagnostici, terapiji i preporukama za pravce istraživanja o rinosinuzitisima i polipima nosa grupa vodećih stručnjaka okupila se po treći put 2012.godine i definisala dokument EPOS 2012.¹

Epidemiološki podaci

Iako postoje brojni podaci o mikrobiologiji, dijagnostici i terapijskim mogućnostima, epidemioloških podataka je malo.

Pregledom literature postaje jasno da je procena prevalencije spekulativna zbog heterogenosti ove grupe bolesti i nepreciznosti u publikacijama.

Prevalencija je različita u različitim starosnim grupama:⁶

- 2.7% u uzrastu od 20-29 godina
- 6.6% u uzrastu od 50-59 godina
- 4.7% kod starijih od 60 godina

U nacionalnoj studiji u Južnoj Koreji prevalencija CRS koji je definisan kao prisustvo najmanje 3 nazalna simptoma koji traju duže od tri meseca sa endoskopskim nalazom polipa ili purulentnim sekretom u srednjem nosnom hodniku, bila je 1,01% bez razlike među starosnim grupama i među polovima.⁶491

Skrining koji je u Belgiji sproveden od strane lekara opšte prakse pokazuje da je 6% populacije imalo hronične rinološke simptome.⁷

Komparativna studija u Škotskoj i na Karibima pokazala je sličnu prevalenciju 9,6 i 9,3%.⁸
493

GAL2EN stidija koja je sprovedena u 19 Evropskih centara , uz EP3OS kriterijume za CRS pokazala je prosečnu prevalenciju 10,9%(od 6,9 do 27,1%).⁹ 12

Studija u Sao Paulu po EPOS kriterijumima pokazala je prevalenciju 5,5%.¹⁰ 1368

U zaključku možemo reći da je prevalencija CRS u opštoj populaciji i u Evropi i USAu rasponu od 5-15%¹¹, dok je prevalencija CRS koju su dijagnostikovali lekari u rasponu od 2-4%.¹²

Etiopatogeneza

Proinflamatorni faktori:

Bakterije

Odavno je potvrđena uloga bakterija u razvoju akutnog rinosinuzitisa, i dugo se smatralo da nedovoljno lečeni akutni rinosinuzitis vodi u hronični oblik. Međutim novija istraživanja ne pokazuju tako jasnu povezanost uticaja bakterija na razvoj hroničnog rinosinuzitisa.¹

Novija istraživanja kojima je proučavan sastav i guстина bakterija u vestibulumu nosa pokazala su postojanje više bakterijskih grupa, sa dominacijom Stafilokoka i Korinebakterija. Takođe prikazan je inverzni odnos ove dve vrste, što sugeriše na antagonističku povezanost.¹³ Takođe pokazan je kompetitivan odnos *S. aureus* i *S. Epidermidis*.¹⁴

Standardne tehnike mikrobiološke analize pokazale su da u sinusima ima manje bakterija nego u nosu,¹⁵ dok su novije senzitivnije tehnike pokazale postojanje značajne bakterijske kolonizacije u sinusima, što može biti od značaja ne samo u slaganju patogena već i u promeni imune reakcije domaćina.¹⁶

Životinje uzgajane u sterilnoj sredini pokazale su naglašenu reakciju Th2 odgovora na ovalbumin, a reakcija je bila reverzibilna nakon izlaganja odgovarajućoj bakterijskoj flori¹⁷. Ovi nalazi sugerišu da bakterijska flora u nosu i sinusima interaguje sa urođenim imunološkim sistemom i može igrati glavnu ulogu u fiziološkoj imunoregulaciji u gornjim disajnim putevima.¹⁸

Mikrobiološke studije koje su poredile akutni i hronični rinosinuzitis pokazale su veću učestalost *S. Aureusa*, gram negativnih bakterija i anaeroba u hroničnom obliku.¹⁹⁻²⁷ (3, 640-647). Dok postoje i studije koje ne pokazuju razlike između kontrola i hroničnog rinosinuzitisa.^{28,29} 648,649

U slučajevima unilateralnog sinuzitisa mikrobiološka flora je obostrano bila slična, a rezultati kulture se nisu menjali nakon uspešne operacije sinusa.^{30,31}

Na rezultate konvencionalnih tehnika mikrobiološke analize i posledičnu varijabilnost rezultata značajno utiče prisustvo bakterija u epitelu, kao i u biofilmu.^{32,33} Primenom molekularnih tehnika moguće je tačnije prikazati mikrobiološki nalaz. Korišćenjem tehnike identifikacije 16S ribozomalne DNK pokazala je razlike u mikrobiološkoj flori pacijenata sa

hroničnim rinosinuzitisom i kontrolnoj grupi, a rezultati su pokazali predominaciju anaeroba u CRS.³⁴

Neki radovi pokazuju da je od značaja i gustina i sastav mikrobiloške flore mogu uticati na rekativnost domaćina.³⁵⁻³⁷(624, 657, 658).

S. aureus je najčešće identifikovana bakterija u okviru hroničnog rinosinuzitisa u zapadnim zemljama,³⁸ dok je u Aziji značajno niža incidenca.³⁹

Poslednje decenije sve više je podataka koji podržavaju teoriju stafilokoknog superantigena, koja podrazumeva da je kolonizacija *S. aureus* povezana sa sekrecijom superantigena - SAgS koji pojačava lokalnu eozinofilnu imflamaciju i podržava formiranje polipa(542, 596).^{40,41} Ovu hipotezu podržava činjenica da su studije kulture pokazale jaku povezanost stafilokoka i polipa 661.⁴² Takođe, podrška ovoj teoriji je skoro identifikacija stafilokoka u intracelularnom prostoru kod oblika sa polipima , dok kod oblika bez polipa i kontrolnoj grupi nije identifikovan intracelularno.^{43,44} Dodatno u 50% pacijenata je identifikovan B i T ćelijski odgovor u tkivu na prisustvo SAgS:-specifične IgE na SAgS, Klonalnu proliferaciju T ćelija.⁴⁵⁻⁵⁰

Dodatno SAgS je identifikovan kod pacijenata sa polipozom, dok nije identifikovan u kontrolnoj grupi.⁵¹667

In vitro studije pokazale su SAgS indukovani citokini i da su proinflamatorni i povećavaju nivo IL-4 i IL-5, dok smanjuju nivo TGF- β i IL-10.⁵¹⁻⁵³668-670 SAgS menja metabolizam eikozanoida, povećava migraciju granulocita i njihovo preživljavanje. Pretpostavlja se da SAgS može izazvati relativni nedostatak glikokortikoida indukcijom β izoforme glukokortikoidnog receptora.⁵⁴ 673

Takođe pokazano je da lokalni efekat SAgS korelira sa stepenom eozinofilne imflamacije.⁵⁵585 Nema podataka o povezanosti SAgS sa CRSsNP, što sugeriše različitu etiologiju i patogenezu.

U zaključku izgleda da SAgS deluje kao pojačivač i modulator inflamatorne reakcije, dok direktna etiološka povezanost nedostaje.⁵⁶ Naime relativno često se može naći SAgS, ali čini se da još uvek nepoznati faktori domaćina utiču na razvoj bolesti.⁵⁷ Dodatno u 50% slučajeva nosnosinusne polipoze na zapadu nije dokazano prisustvo SAgS, što sugeriše da njegovo postojanje u razvoju CRSwNP nije neophodno.⁵⁸ Potom kod pacijenata sa cističnom fibrozom postoji visoka učestalost stafilokokne kolonizacije, ali nema jasnih dokaza u formiranju polipa kod ovih pacijenata.⁵⁹ Zbog ovoga većina istraživača smatra da je SAgS pre modulator imune reakcije, nego diskretni etiološki faktor.^{60,61}

Biofilm

Biofilm je organizovana struktura bakterijskih kolonija i zaštitnog ekstracelularnog matriksa. Služe za zaštitu bakterija od imunog odgovora domaćina i dejstva antibiotika,^{62,63} i smatra se da su izvor egzacerbacije hroničnog rinosinuzitisa.⁶⁴ Izolovani su kod pacijenata sa CRSwNP i CRS sNP, ali značajno rđe se sreću u kontrolnim grupama. U zavisnosti od metoda detekcije mogu se naći od 30 do 100% pacijenata sa CRS.⁶⁵⁻⁷³

U biofilmu se mogu naći različite kulture: H. influenza, S. aureus, S. pneumonia, P. aeruginosa and M. catarrhalis (677, 678, 684, 687, 689).^{74,75}

S. aureus and P. Aeruginosa su povezani sa slabijim efektima operacije⁷⁶

H. Influenze je povezan sa boljim ishodom operativnog lečenja, i slabije izraženim tegobama.⁷⁷

Najšire je prihvaćeno mišljenje da biofilmovi predstavljaju adaptaciju bakterija na dejstvo imunog sistema i dejstvo antibiotika, uzrokujući slabiju kontrolu bolesti.

Iako terapija usmerena na eliminisanje biofilma omogućava bolju kontrolu bolesti, još uvek nije jasno ima li biofilm ikakvu ulogu u samom razvoju bolesti⁷⁸.

U posebnom poglavlju biće razmatran životni ciklus i struktura biofilma

Gljivice

Prisustvo gljivica je u poslednjoj deceniji izazvalo brojne kontraverze.^{79,80}

Senzitivne tehnike su pokazale da su gljivice detektovane u skoro 100% kod pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom i kontrolama.⁸¹ Međutim za razliku od kontrolne grupe, kod pacijenta sa CRS je detektovan povišen nivo eozinofila u tkivu i lumenu, bez IgE posredovne reakcije.⁸² Na osnovu čega je i predložena gljivična hipoteza po kojoj ekscitivna, ne-IgE reakcija domaćina na ubikvitarne gljivice predstavlja primarni okidač za razvoj hroničnog rinosinuzitisa - oba oblika sa i bez polipa, koji bi predstavljali samo različiti stepen bolesti.⁸³⁻⁸⁵

Sumnja na gljivičnu etiologiju pokrenula je brojne studije sa primenom antigljivičnih agenasa u lečenju CRS. Velika, multicentrična, slepa, randomizirana studija primene topikalnog amfotericina nije pokazala bilo kakav efekat u lečenju.⁸⁶ Takođe pokazano je da primena amfotericina nema efekte na proinflamatorne hemokine, citokine ili faktore rasta u CRS.⁸⁷

Po sadašnjim saznanjima Fungalna teorija u razvoju hroničnog rinosinuzitisa nema značajne osnove, a početni entuzijazam je izbledeo.^{88,89} Mada uticaj gljivica u etiologiji ili patogenezi nije potpuno eliminisan iz nekoliko razloga:

1. Gljivice, pre svih *Alternaria*, sadrži proteaze koje mogu nespecifično aktivirati proteaza-aktivirajuće receptore koji se nalaze na apikalnoj površini epitelnih ćelija respiratorne sluznice sa sekundarnim efektima na eozinofile i neutrofile. Aktivacija ovih receptora rezultira značajnom inflamacijom u prisustvu gljivica.⁹⁰⁻⁹² (25, 719, 720)
2. Gljivice mogu imati ulogu u razvoju Alergijskog Fungalnog Rinosinuzitisa (AFRS)^{93,94} koji je definisan kao nosna polipoza sa eozinofilnim mukusom,⁹⁵ karakterističnim CT nalazom, i tipom 1 hipersenzitivne reakcije na gljivične antigene pokazane serološki ili kutanim testovima⁹⁶ i gljivičnim elementima u mukusu detektovanim kulturom ili serološki.⁹⁷ Predloženo je da ova vrsta CRS bude izdvojena u poseban entitet.⁹⁸ Kao podrška ovoj teoriji govore podaci da je kod pacijenata nakon stimulacije gljivičnim antigenima došlo do povišenog nivoa Th2 citokina, kao i postojanje antigljivičnih specifičnih IgE u mucinu i mukozi.⁹⁹ Međutim postoje i pacijenti sa sličnim eozinofilnim mucinom bez alergije na gljivice i bez identifikovanih gljivica u mucinu. Sličnosti koje se javljaju bez obzira na prisustvo ili odsustvo gljivica ili alergije na gljivice proučilo je mišljenje nekih istraživača da alergija na gljivice ne može biti primarni patofiziološki mehanizam koji vodi ka razvoju AFRS,¹⁰⁰ i očekuju se odgovori budućih studija.
3. Ćelijski zid gljivica sadrži polisaharidni polimer - Chitin, koji uz odgovarajući receptor u epitelu može da pokrene imuni odgovor-Th2 imununi odgovor *in vivo* miša,¹⁰¹ infiltraciju mukoze eozinofilima, bazofilima i Th2 limfocitima AMCCase.¹⁰² Iako su ovi rezultati interesantn klinički značaj još uvek je nejasan.

U zaključku iako prisutvo gljivica može imati direktan imuno-stimulativan efekat, sa mogućim izuzetkom AFRS, nedostaju *in vitro* i *in vivo* dokazi da su fungalni antigeni primarni ciljevi mukoznog T i B ćelijskog odgovora koji su uočeni u hroničnom rinosinuzitisu. Tako, uprkos početnom entuzijazmu fungalna hipoteza se ne čini da je osnova za razvoj CRS.

Alergeni

Potencijalna uloga inhalacionih alergena u etiologiji hroničnog rinosinuzitisa je kontraverzna, mnogo je nedoumica vezanih za definisanje hroničnog oblika i atopije, varijabilnosti u metodologiji i varijabilnosti u odgovoru pacijenta na alergološkom testiranju.¹⁰³

Alergijski rinitis sa patofiziološkog stanovišta kroz senzibilizaciju domaćina na antigene proteine kroz mukoznu barijeru preko dendrijskih ćelija, naive- CD4 limfocita antigen specifičnim Th2 limfocitima i IgE sekretujućim plazma ćelijama.

U razvoju CRS nije u potpunosti jasna patofiziologija, iako ovi mehanizmi mogu biti uključeni. Klinički simptomi AR su slični simptomima CRS ali su u manje izraženi od najčešćih oblika CRS.¹⁰⁴

AR može biti jedan od mehanizama koji su uključeni u hronične inflamatorne procese sinonazalne mukoze, što je pokazano na celularnom i molekularnom nivou. Međutim značaj AR u razvoju kliničke slike CRS je izgleda skroman, jer prisustvo AR ne utiče na intenzitet simptoma, proširenost promena na CT skenovima i verovatnoću hirurškog neuspeha kada se poredi sa grupom CRS bez dokazane alergije.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ Potom izbegavanje alergena i primena imunoterapije olakšava neke rinološke simptome, ali ne menja sinonazalnu bolest.¹⁰⁸

U zaključku iako neki oblici perenijalnog- perzistentnog alergijskog rinitisa mogu po definiciji da se svrstaju u CRS, malo je podataka koji podržavaju etiološku ulogu AR u razvoju CRS. Najrazumniji zaključak bi bio da se AR može smatrati kao dodatni problem koji doprinosi različito i malo u sinonazalnoj inflamaciji koja se sreće kod većine pacijenata sa CRS

Ali izuzeci bi bili pacijenti sa izraženom CRSwNP sa multiplim pozitivnim kutanim testovima²⁵, što ukazuje na generalizovano oštećenje mukozne barijere^{109,110}14,23, alergijski fungalni sinuzitis¹¹¹722,, pacijenti sa lokalnim poliklonalnim IgE u odustvu atopije^{542,596}.^{112,113} Postoji mišljenje da ova podgrupa pacijenata manifestuje superantigen uzrokujuću lokalnu poliklonalnu IgE reakciju na brojne agense sredine koji rezultira masivnom hroničnom stimulacijom mast ćelija.¹¹⁴747

1.2.NOSNO SINUSNA POLIPOZA

Teško je definisati nosni polip. Opisuju se kao edematozna sluznica nosa ili benigne neoplazije koje su sačinjene od tela i peteljke. Edematozna nosna mukoza sa malim polipoidnim protruzijama u predelu srednjeg nosnog hodnika razlikuje se od velikog pojedinačnog polipa - liči na dobroćudni tumor koji opturira čitav nosni kavum. Često korišćena definicija (da je nosni polip ne-neoplastični edem mukoze koji obično potiče iz predela srednjeg nosnog hodnika i prolabira u nosnu duplju) povezana je sa njenom patogenezom, ali nema dokaza da je polip prolaps mukoze. Polipi se takođe nazivaju „blede kese” edematoznog tkiva, ali morfolozi ne definišu epitel kao kesu niti stromu polipa kao sadržaj kese. Svaka benigna neoplazija prekrivena epitelom, kao što je invertni papilom, po tome bi mogla da se naziva kesom. Neutralna, prihvatljiva definicija mogla bi da glasi: polip je pedunkulirana izdužena struktura, mekane konzistencije koja je povezana sa nosnom sluznicom uskom peteljkom ili širokom bazom. Polipi su obično mekani, pokretni, glatke, sjajne površine i plavičasto-sive ili ružičaste transparente strukture. Veličina polipa varira, obično je oko 1cm u dijametru.

Epidemiologija

Nosna polipoza je relativno česta i u opštoj populaciji se nalazi u 1-4% , a u visokom procentu u određenim grupama pacijenata. U grupi pacijenata sa intolerancijom na aspirin nalazi se u 36% , u 7% kod pacijenata sa astmom (u 13% sa neatopijskim astmom i 5% sa atopijskim astmom) kod 20% pacijenta sa cističnom fibrozom i kod 2% pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom (5% sa nealergijskim rinosinuzitisom i 1% sa alergijskim rinosinuzitisom). Ostala stanja su takođe povezana sa nosnom polipozom: Young-ovsindrom, Churg-Strauss sindrom, cilijarna disfunkcija-Kartagenerov sindrom i alergijski fungalni sinuzitis (sa polipima od 66-100% slučajeva).

U studijama na kadaverima polipi se nalaze u iznenađujuće visokom procentu ispitivanih uzoraka: polazeći od 2% ¹¹⁵kada se analiziralo prednjom rinoskopijom do 26% ili čak 43% kada se koristio endoskop. ^{116,117} Mnogi polipi od poslednje dve studije su ipak mali bez kliničke simptomatologije. Nalaz kao što je visoka incidencija asimptomatskih nosnih polipa u randomizovanoj grupi starijih hospitalizovanih pacijenata može da ukazuje na visoku reverzibilnost nosne polipoze, sa samo nekim procentom polipa koji će postati simptomatski i klinički prepoznatljivi. Ipak , veće studije na kadaverima su potrebni za rešenje ovih pitanja.

U nekoliko kliničkih serija pacijenata sa nosnom polipozom, učestalost astme je velika, ali zavisi od stepena selekcije pacijenata .U slučajnom uzorku od 180 pacijenata iz dobro definisanog geografskog područja, po prvi put lečeni zbog nosne polipoze tokom osmogodišnjeg perioda 21% pacijenata je imalo astmu. Između 103 pacijenata iz istog područja i perioda ali sa prethodno učinjenom polipektomijom 31% ¹¹⁸ ima astmu, što pokazuje da je u težim oblicima i dugotrajne polipoze učestialija bronhijalna astma. U nekim drugim serijama pacijenata sa polipozom učestalost astme je 70-100%. ¹¹⁹⁻¹²¹ Nema epidemioloških studija prevalencije nosne polipoze u velikim, randomizovanim grupama opšte populacije, većina studija je bazirana na kliničkoj populaciji.

Morfologija

Morfološki polipi se sastoje od epitela i strome. Razlikuje se peteljka i telo koje se može podeliti na proksimalni deo blizu peteljke, srednji i distalni deo. Površina polipa može se definisati kao prednja (okrenuta ka ulazu u nos), zadnja (okrenuta ka hoani), medijalna i lateralna.

Epitel

Epitel nosnih polipa je vulnerabilna barijera na koju utiču protok vazduha koji sadrži nežive ili žive materije kao što su virusi, bakterije ili različite zagađivače vazduha. Protok vazduha sam po sebi ima uticaja na promenu epitela polipa- metaplaziju.

Distribucija epitela

Različiti tipovi epitela su identifikovani, a najčešće tipični respiratorni epitel, pseudoslojevit epitel sa cilijarnim i peharastim ćelijama, ali takođe se može naći i niski kockasti ili cilindrični epitel, slojeviti, nekeratinizirajući epitel i prelazni epitel.¹²³ U studiji distribucije epitela, najveći delovi polipa prekriveni su pseudoslojevitim, cilindričnim epitelom, varijabilne visine, koji se nalazio kod 62% prednjih i 78% polipa iz zadnjih partija nosa. Tranzicioni epitel je nađen kod 33% prednjih i 19% zadnjih polipa. Pločasto slojeviti epitel je nađen u 5% prednjih i 3% zadnjih polipa.¹²³

U predelima prekrivenim pseudoslojevitim epitelom, dominirao je visoki ili hiperplastični epitel. Hiperplastični i visoki tranzicioni epitel su češće nalaženi u polipima u prednjim delovima nosnih kavuma, gde zamenjuju pseudoslojeviti epitel. Može se uočiti i prelaz (najčešće postepen) između različitih tipova epitela u istom polipu. Neki istraživači su nalazili prelazni epitel pločasto slojevit, nekeratinizirajući kod polipa u prednjim partijama nosnih kavuma.¹²⁵

Gustina Peharastih Ćelija

O prisustvu peharastih ćelija u nosnim polipima govore nekoliko autora. Brojanjem peharastih ćelija u čitavom preparatu distribucija peharastih ćelija je veoma heterogena, postoje velike varijacije u gustini, ne samo između različitih polipa već i između različitih delova istog polipa- od potpunog nedostatka do delova u kojima su one relativno gusto raspoređene. Srednja gustina varira od 280 do 10 000 ćelija /mm². Srednja gustina prednjih polipa je 3450 ćelija/mm², u poređenju sa 6050 ćelija/mm² kod zadnjih polipa.¹²⁵

Studija gustine peharastih ćelija dovela je do četiri jasna zaključaka:¹²⁶⁻¹²⁸

1. Distribucija je bila ekstremno iregularna,
2. Gustina je bila veoma niska u poređenju sa gustinom na septumu, školjkama i sinusima,
3. Postoje velike razlike u srednjoj gustini pojedinačnih polipa,
4. Ne postoji uopštena regularnost u distribuciji peharastih ćelija.

Gustina je ipak manja u prednjim nego u posteriorno pozicioniranim polipima.

Povezanost gustine peharastih ćelija i tipa epitela

Gustina peharastih ćelija je bila najviša u pseudo slojevitom cilindričnom epitelu, dok je četiri puta niža u prelaznom epitelu i čak i niža u skvamoznom nekeratinizirajućem epitelu, iako postoji velika varijacija. Visina cilindričnog epitela ima neki uticaj na gustinu

peharastih ćelija. Visoki epitel sa izraženom hiperplazijom bazalnih ćelija imao je najveću gustinu, dok je u nižem pseudoslojevitom epitelu gustina uopšteno niža. Jedno - dvo i tro-slojno kockasti epitel ponekad je imao relativno nisku gustinu peharastih ćelija. Ipak bilo je i nekoliko izuzetaka ovog pravila.

Prelazni epitel sa bazalnim cilindričnim ćelijama i površnim okruglim ćelijama nađen je na nekoliko retkih lokalizacija. U delovima sa visokim tranzicionim epitelom gustina peharastih ćelija bila je veća nego u delovima sa niskim prelaznim epitelom.

Pločasto slojeviti, nekeratinizirajući epitel sa niskim gustinama peharastih ćelija je retko nalažen.

Tranzicioni i pločasti epitel imali su delove sa potpunim odsustvom peharastih ćelija, i u prednjim i zadnjim polipima.

Intraepitelne žlezde

Kod nekih polipa intraepitelne žlezde su nađene u velikom broju. Ove patoške strukture sačinjene su od 30-50 mucinoznih ćelija, cirkularno postavljenih oko lumena. U različitom broju i distribuciji nađene su u traheji i mukozi Eustahejeve tube.^{129,130} Messerklinger smatra da su to nestalne formacije i eksperimentalno je indukovao intraepitelijalne žlezde u traheji gvinejskog praseta 1 sat nakon injekcije pilokarpina koji ima parasimpatikomimetično dejstvo, ilustrujući dinamiku histopatologije.

Dinamika Epitelijalnog Pokrivača

Prisustvo intraepitelijalnih žlezda kod jednih, kao i njihovo potpuno odsustvo kod drugih, a takođe i histopatološka slika epitela (sa velikim varijacijama u gustini peharastih ćelija, tipu epitela u različitim delovima pojedinačnog polipa) pokazuje dinamiku u okviru samog polipa. Mnogo faktora je uključeno u ovaj proces.

Protok vazduha se smatra konstatnom traumom površine epitela, oštećujući polip partikulama i oštećenjem ćelija što je pokazano eksperimentalno kod zečeva.¹³¹ Povreda nastala protokom vazduha povećava učestalost regeneracije i debljinu epitela, jer oštećene ćelije se zamenjuju novim, a ovaj proces zahteva hiperplaziju i povećanu aktivnost deobe bazalnih ćelija. Povećanje gustine peharastih ćelija opisano je u upalnim i alergijskim stanjima.^{132,133} Ipak kvantitativna analiza pokazala je nižu gustinu peharastih ćelija kod pacijenata sa alergijama. Polipi pacijenata sa alergijom ne pokazuju veću gustinu nego polipi pacijenata koji nisu alergični.

Drugi faktori, kao što je kontakt dve površine epitela, učestalost regeneracije epitela i stepen rasta polipa mogu uticati na gustinu peharastih ćelija u epitelu nosnih polipa. Pokazano je da prisustvo timusa utiče na gustinu peharastih ćelija. Logično je zaključiti da

je varijacija u strukturi epitela i gustini peharastih ćelija posledica stalnih spoljašnjih i unutrašnjih uticaja. Zbog toga svako objašnjenje patogeneze nosne polipoze koje je zasnovano na epitelu polipa je pod velikim znakom pitanja.¹³⁴

Stroma polipa

Stroma polipa sadrži rastresito vezivno tkivo sa krvnim sudovima i različitu gustinu imunokompetentnih ćelija, kao što su neutrofilni, eozinofili, bazofili, mast ćelije, plazma ćelije, limfociti i drugi. Ipak, neki ćelijski tipovi pokazali su varijabilni raspored na različitim delovima istog polipa, sugerišući da postoji dinamički proces u okviru samog polipa. Nove tehnike kojim je moguće identifikovati hemijske medijatore inflamatorne reakcije prikazale su nam važna saznanja.¹³⁵

Mukozne Žlezde

O prisustvu i karakteru mukoznih žlezda nosnih polipa diskutovalo je više poznatih hirurga tokom prethodnog stoleća. 1885 Billroth u njegovoj tezi „Struktura nosnih polipa“ opisuje nosne žlezde kao dugačke tubularne formacije. Drugi ih smatraju nosnim žlezdama. Dok su treći proučavali mukozne žlezde u polipima i pokazali da one imaju značajnu ulogu u razumevanju patogeneze i rasta nosnih polipa.¹³⁶

Distribucija i gustina

Otvori žlezda su iregularno raspoređeni. Obično ih nema u peteljci i na najdistalnijim delovima polipa. Kod nekih polipa ih ima veoma malo (manje od 10) dok ih kod drugih ima više od 100. Kod većine polipa gustina je između 0,1 žlezda/mm² i 0,5 žlezda/mm² površine polipa. Gustina žlezda je značajno manja od gustine u nosnoj sluznici.¹³² U nosnoj sluznici lateralnog i medijalnog zida srednje nosne školjke gustina je 7 žlezdi na mm². Žlezde su regularno raspoređene kroz sluznicu, i potpuno se razlikuju od žlezda polipa.

Oblik i struktura

Žlezde polipa su tubularne, različitog oblika i veličina, sa velikim varijacijama.¹³² Različitog su tipa. Mogu biti dugačke, tubularne, dužine od 1 do 8 mm, i najčešće počinju u srednjem ili distalnom delu polipa i rastu ka peteljci. Paralelne su međusobno i sa longitudinalnom osom polipa. Neke su veoma jednostavne, uzane šupljine, dok druge imaju mala alveolarna proširenja sa strane. Neke žlezde su mali jednostavni bulbosi sa dihotomnim grananjem, dok druge imaju izraženo grananje.

Arhitektonika

Epitel je izrazito polimorfan. Neke dugačke žlezde su prekrivene pseudostratifikovanim epitelom, sa cilijama i peharastim ćelijama., distalno ove žlezde postaju tanje (dva ili jedan sloj). Druge su sastavljene od visokog kolumnarnog epitela u kojem su sve ćelije su mucinozne.

Formacija i rast

Žlezde najčešće imaju njihove otvore u donjim polovinama i dugačke tubule koji se pružaju ka peteljci. Oblik i arhitektura žlezda razlikuje se značajno od nosne mukoze i pokazuje da sve žlezde se formiraju tokom rasta polipa i da ne rastu u polip iz intaktne sluznice nosa. Kada se prva žlezda fomira, polip je dostigao određenu veličinu. Ovo je jedino objašnjenje za oblik i orijentaciju dugačkih žlezda. Dugačke žlezde se prve fomiraju u polipu, rastući od bazalnog dela epitela na dole ka dubini polipa i potom se formiraju lumeni. Kako se nastavlja rast polipa i žlezde postaju dugačke i zategnute. Pasivno zatezanje duktusa žlezda ukazuje da je rast polipa takođe pasivan.

1.3.BIOFILM

Bakterije preferiraju život u zajednici, kao sesilni i za površinu vezani mikroorganizmi, za razliku od nomadskog, planktonskog načina života.¹³⁷ Površina za koju se adheriraju može biti abiotske (inertni materijali) ili biotske (živa tkiva ili ćelije) prirode. U prirodnim ekosistemima su brojniji mikroorganizmi vezani za površinu. Sposobnost da formiraju biofilm sa ekološke tačke gledišta predstavlja prednost jer je oblik simbiotske veze.^{138,9} Tendencija mikroroganzama da formiraju biofilm je ubikvitarna jer se hranjive materije u vodenim sistemima koncentrišu u blizini čvrstih površina, i adherencija za različite površine u prirodi obezbeđuje zaštitu od okoline.¹⁴⁰

Definicija

Biofilm predstavlja zajednicu bakterijskih ćelija koje su ireverzibilno adherisane za površinu i uronjene u ekstracelularnu polimernu supstancu koje same proizvode.^{137, 145-147} Za nastanak biofilma neophodno je prisustvo bakterija, ekstracelularne polimerne supstance i površine. Ukoliko nedostaje samo jedna komponenta neće doći do njegovog formiranja.

Istorija biofilma

Još u sedamnaestom veku Antonie van Leeuwehoek je uočio da mikroorganizmi usne duplje mogu da adheriraju za površinu zuba, da na njoj rastu i formiraju plak tj biofilm.¹⁴¹ Četrdesetih godina dvadesetog veka Zo-Bell i saradnici su prepoznali ovu tendenciju kod bakterija koje žive u moru.^{139,142} Ipak detaljnije proučavanje biofilma moralo je da sačeka otkrivanje elektronskog mikroskopa.

Joanes i saradnici su 1996 goidne po prvi put upotreбили transmisioni elektronski mikroskop za proučavanje biofilma stvorenog na filterima sistema za navodnjavanje biljaka.¹⁴³ Istovremeno, korišćenjem specijalnog bojenja Ruthenium-red, ovi istraživači su pokazali da je matriks u koji su uronjene bakterije polisaharidne prirode.¹⁴³

Prekretnica za proučavanje biofilma načinjena je 1978. Godine kada su William Costerton i saradnici po prvi put definisali biofilm i postavili teoriju u načinu njegovog formiranja.¹⁴⁴ Prema ovoj teoriji većina bakterija u vodenim ekosistemima siromašnim u hranjivim materijama raste adherisana za površinu, uronjena u matriks koji same proizvode formirajući biofilm. Podaci na kojima je zasnovana ova teorija su dobijeni proučavanjem prirodnih vodenih ekosistema u kojima preko 99,9% bakterija živi adherisana za različite površine formirajući biofilm.¹⁴⁴

Biofilm može da se posmatra kao prethodnicu multicelularnog organizma koji omogućava bakterijama značajnu otpornost na antibiotike i odbranu od zaštitih mehanizama domaćina putem nekoliko različitih mehanizama.

Formiranje bakterijskog biofilma

Tokom prethodnih decenija brojni israživači su se bavili proučavanjem biofilma i načinom njegovog formiranja.^{137,141-46} Ustanovljeno je da je formiranje biofilma složen proces koji se odvija u nekoliko faza: faza bakterijske adherencije, faza kolonizacije površine, faza maturacije biofilma i faza otkidnja i disperzije planktonskih ćelija sa površine biofilma.^{137,141-46}

Faza bakterijske adherencije

Prva faza formiranja biofilma je adheriranje bakterija za površinu, živu ili neživu. Ova faza zavisi od brojnih faktora i to su priroda površine, karakteristike bakterije i faktori spoljašnje sredine.^{141,147}

Priroda površine

Adherencija bakterija za površinu zavisi od brojnih karakteristika površine, pre svega od njene glatkoće- hrapavosti, hidrofobnosti i da li je površina obložena, kao i karakteristikom obloge.^{141,147}

Bakterije lakše adheriraju za hrapavu nego za glatku površinu.^{141,147-8} Characklis i saradnici su pokazali da se adherencija bakterija povećava sa povećanjem hrapavosti površine.¹⁴⁹ Razlog za ovu pojavu je što se hrapavošću povećava površina za adherenciju i čini je hidrofobnijom.¹⁴⁷⁻¹⁴⁹

Bakterije lakše adheriraju za hidrofobne površine kao što su teflon, silikon i plastika nego za hidrofilne kao što su staklo i metal.¹⁴⁷⁻⁵⁰

Površine mogu biti obložene polimerima iz medijuma kao što su albumini, lipidi, fibronektin i neorganske soli. Karakteristike površine koja je obložena trajno su promenjene, tako da je afinitet bakterije za površine pre i posle oblaganja sasvim

različit.^{137,141} Većina površina u prirodi je obložena. Zbog toga je važno naglasiti da primarni kontakt generalno postoji između bakterije i površine koja je obložena. Wang i saradnici su demonstrirali da je primarna adhezija *Staphylococcus epidermidis* za polietilen povećana ako je površina obložena trombocitima, a smanjena ako su za površinu adsorbovani proteini plazme.¹⁵¹

Karakteristike bakterijskih ćelija

Karakteristike bakterijskih ćelija kao što su površinska hidrofobnost, prisustvo fimbrija, flagela i adhezina imaju uticaj na stepen adhezije bakterija za površinu.^{137,141,148}

Hidrofobnost ćelijske površine je važna za adheziju. Većina bakterija je negativno naelektrisana, ali i hidrofobna.¹⁵² Međutim, kod različitih bakterija različita je i hidrofobnost njihovih površina. Bakterije čija je površina hidrofobnija, lakše adheriraju površinu, i obrnuto. Fimbrije odgovorne za adheziju bakterija doprinose hidrofobnosti jer sadrže veliki broj hidrofobnih aminokiselinskih rezidua.¹⁵³

Prisustvo flagela, fimbrija, i adhezina na površini bakterijske ćelije utiče na stepen adhezije za površinu. Kod *E.colli* pokazano je da mutanti koji nemaju površinski protein ClpC ne mogu da adherišu za površinu i nazvani su *sad* (surface attachment deficient) mutanti.¹⁵⁴

Faktori spoljašnje sredine

Faktori spoljašnje sredine, kao što su pH, temperatura, količina hranjivih materija i koncentracija jona utiču na stepen adhezije za površinu.¹⁴⁷

Nekoliko studija je pokazalo da adhezija bakterija i formiranje biofilma u prirodnim vodenim sistemima ima sezonski karakter.¹⁵⁵

Flercher je otkrio da povećanje koncentracije nekih katjona (natrijum, kalijum, kalcijum) utiče na adheziju *Pseudomonas fluorescens* za staklo, prevashodno smanjujući sile odbijanja između negativno naelektrisane površine bakterija i stakla.

Pseudomonas fragi pokazuje maksimalnu adheziju za nerđajući čelik pri pH 7-8, *Yershinia enterocolitica* adheriše bolje za nerđajući čelik na temperaturi od 21°C nego na 35°C ili 10°C.¹⁵⁶

Bakterije češće formiraju biofilm kada se nađu u medijumu deficitarnom u hranjivim materijama i drugim supstancama neophodnim za normalni rast i razmnožavanje.^{137, 141,145-150} Zbog toga se može smatrati da život u biofilmu predstavlja jedan oblik preživljavanja bakterija u nepovoljnim uslovima sredine.

Faza bakterijske adhezije se može podeliti na dve podfaze: 1 faza spajanja i

2. faza prijanjanja.¹³⁷

Faza spajanja (reverzibilna faza adherencije)

Reverzibilna faza adherencije predstavlja slučajan susret između površine i planktonskog - neadherisanog mikroorganizma.¹³⁷ Ova faza je diktirana brojnim fizičko- hemijskim faktorima koji određuju interakciju između bakterije i površine.^{137,141,145-47}

Da bi bakterija mogla da se adheirise za površinu, prvo treba da se približi površini. Bakterija može biti pokrenuta strujom tečnosti koja teče preko površine, ali najznačajniju ulogu u kretanju bakterija imaju flagele.^{137, 141,145-47,157} Pored flagela, određenu ulogu u kretanju imaju i fimbrije. One omogućavaju kretanje u obliku trzaja (*twitching* kretanje) koje je prisutno kod nekih Gram-negativnih bakterija.¹⁵⁸ Smatra se da postoje i aletrnativni mehanizmi pokretljivosti, takozvana silama-indukovana pokretljivost posredovana silama privlačenja između površine i bakterije.¹⁵⁷ Ovi alternativni mehanizmi pokretljivosti su naročito značajni za približavanje površini nepokretnih bakterija.

Jednom kada se bakterije primaknu dovoljno blizu površini, na rastojanje manje od 1nm adherencija zavisi od neto sume privlačenja i odbijanja stvorenih između dve površine. Ove sile uključuju elektrostatske i hidrofobne sile, Van der Waalsove sile i hidrodinamičke sile.¹³⁷ Elektrostatske sile su sile odbijanja, jer većina bakterija i inertnih površina su negativno naelektrisani. U ovoj fazi bakterije su reverzibilno adherisane za površinu slabim fizičko- hemijskim vezama i zbog toga se lako mogu odvojiti od površine.

Faza prijanjanja (ireverzibilna faza)

Druga faza adherencije je složena faza u kojoj se bakterije svojim specifičnom adhezinima, fimbrijama ili flagelama vezuje za površinu.¹³⁷ Bakterije mogu da koriste različite adhezine za adherenciju u zavisnosti od površine za koju adheirise. *Vibrio cholerae El Tor* koristi fimbrije za kolonizaciju intestinalne sluznice, dok u vodenoj sredini za adherenciju za neživu površinu koristi manoza - senzitivne hemaglutinine.¹⁵⁹ U ovoj fazi bakterije su ireverzibilno adherisane za površinu.

Faza kolonizacije površine

Ireverzibilno adherirane bakterijske ćelije rastu i razmnožavaju se koristeći hranjive materije prisutne na površini i u okruženju.¹³⁷ Bakterije na površini formiraju male aggregate, tzv. Mikrokolonije koji prekrivaju površinu.^{141, 145-47}

Najznačajniju ulogu u formiranju mikrokolonija na površini imaju fimbrije. One omogućavaju međusobno vezivanje bakterija, kako bakterija iste tako i različitih vrsta.^{141,145-47}

Tokom ove faze, adherirane bakterije produkuju ekstracelularnu polimernu suspcstancu(EPS) koja ima osobinu da čvršće vezuje mikrokolonije za površinu.¹⁵⁶ EPS predstavlja sastavni deo svakog biofilma. Mutanti nesopsobni da sintetišu EPS ne mogu da formiraju biofilm.¹⁶⁰⁻
¹ EPS je sastavljen od vode, polisaharida, metalnih jona, proteina, DNK, lipida, esencijalnih minerala i nekih hranjivih materija poreklom iz okruženja. Najveći deo EPS čini voda.¹⁶⁰⁻

¹EPS nije uniforman, njegov sastav i produkcija zavise od vrste bakterija i starosti biofilma. Sa starenjem njegova produkcija se povećava.¹⁶¹

Faza maturacije biofilma

Jednom kada bakterije kolonizuju površinu, započinje proces maturacije biofilma.¹³⁷

Za mikrokolonije na površini se adheiraju nove bakterijske ćelije, koje rastu, razmnožavaju se i formiraju nove mikrokolonije. Bakterije unutar mikrokolonija su vezane intercelularnim vezama, a same mikrokolonije su uronjene u EPS, koji ih povezuje. Između mikrokolonija u biofilmu nalaze se vodeni kanali (*water channel*) kroz koje perfunduje voda i hranjive materije.^{137,141,145-7}

Maturacija biofilma je spor proces tako da biofilm raste nekoliko milimetara za nekoliko dana, u zavisnosti od uslova sredine.¹⁵⁶

Mogućnost rasta bilo kog bakterijskog biofilma je limitiran pristupačnošću hranjivih materija iz okruženja, perfuzijom hranjivih materija do ćelija u biofilmu, i na kraju od uklanjanja razgradnih produkata.^{141,145-7} Sa maturacijom biofilma raste i broj bakterija uronjenih u EPS. U zavisnosti od njihove lokalizacije, neke od bakterija mogu imati nedovoljno kiseonika, hranjivih materija i prostora za sopstvenu deobu.¹⁵⁶ Kao rezultat se razvija gradijent kiseonika između površinskih delova i unutrašnjih slojeva biofilma. U biofilmu ne postoji adekvatna eliminacija razgradnih produkata metabolizma tako da se oni nagomilavaju u dubljim slojevima. Takođe nema ni adekvatne količine hranjivih materija u biofilmu, tako da je jedan od efekata življenja u biofilmu razvijanje kompeticije između bakterija, kako za kiseonik tako i za hranjive materije.¹⁶² Kao posledica ovakvog načina života u biofilmu, bakterije sporije rastu, a neke prelaze u stanje mirovanja (takozvane uspravane bakterije).¹⁶²

Sistem odgovoran za maturaciju biofilma je sistem međucelijskih komunikacija takozvani „quorum sensing“.¹⁶³ Ovaj sistem obuhvata sistem hemijskih signala koji omogućavaju međusobnu komunikaciju i interakciju između bakterija kada su u masi, tj biofilmu. Kada se formira kritična masa aktivira se „quorum sensing“ i bakterije počinju da luče hemijske supstance - autoinduktore.¹⁶⁴ Njihova koncentracija se povećava sa povećanjem broja bakterija u biofilmu.¹⁶³⁻⁴ Prisustvo čak i minimalnih koncentracija autoinduktora dovodi do promena u ekspresiji gena i omogućava započinjenje procesa maturacije biofilma.¹⁶³ Kod Gram-negativnih bakterija autoinduktor je axilovani homoserin lakton, a kod Gram-pozitivnih bakterija to su razni oligo-peptidi.¹⁶³⁻⁵

Faza otkidanja i disperzije planktonskih ćelija sa površine biofilma

Starenjem biofilm postaje trošan, fragilan, tako da se bakterije mogu otkinuti sa površine biofilma i diseminovati do nove površine na kojoj će formirati biofilm.

Kao što postoje signali za maturaciju biofilma, tako postoje i signali za ovu fazu. Utvrđeno je da kod biofilma koga formira *Pseudomonas aeruginosa* otkidanje i disperzija bakterija sa površine je rezultat enzima koji razgrađuje alginat.

Raznovrsnost biofilma

Biofilm može biti izgrađen od jedne ili više bakterijskih vrsta. Kada je biofilm sačinjen od različitih bakterijskih vrsta, što je češće u prirodnim uslovima, metaboličke međuprodukte jedne vrste može koristiti druga vrsta za svoj rast, i adherencijom jedna vrsta može obezbediti ligande za adherenciju drugih, dok kompeticija za hranu i akumulaciju toksičnih produkata oslobođenih od primarnih kolonizatora može da limitira raznovrsnost unutar biofilma.

Biofilmovi izgrađeni od jedne bakterijske vrste češće se formiraju na medicinskim implantima i na raznim tkivima i organima u organizmu čoveka.

Velika je varijabilnost u mikrobiološkom fenotipu u odnosu na brzinu rasta i transkripciju gena i nekoliko bakterijskih i gljivičnih vrsta i sojeva može opstati u jedinstvu u istom biofilmu, sa određenim stepenom međusobne raspodele funkcija. Različite bakterijske vrste i fenotipi u biofilmu su grupisane i neravnomerno raspodeljene u subklonove i takođe nejednako su osetljive na antimikrobne supstance i odbranu domaćina. Između površine i dubokih slojeva u biofilmu postoji gradijent u nivou kiseonika, a najdublji slojevi mogu praktično biti anaerobni. Mikrobi su aktivniji na površini, ipak u dubokim slojevima njihova metabolička aktivnost i ćelijska deoba su sniženi tako da mogu biti potpuno inaktivni i van uticaja antibiotika.⁴ U debelim biofilmovima sistem kanalića za vodu omogućava distribuciju kiseonika i hranjivih materija, nalik na cirkulaciju krvi. Ipak u pojedinim delovima nivo kiseonika može biti dovoljno nizak omogućavajući anaerobima da prežive.

Da bi mogle da formiraju biofilm neophodno je postojanje *quorum sensing* (QS), sistema hemijskih signala koji omogućavaju međusobnu komunikaciju i interakcija bakterija u masi tj. u biofilmu. Bakterije proizvode i istovremeno reaguju na ove male QS signalne molekule, koji aktiviraju određene regulatorne gene. Preko QS mogu da osete kada je postignuta kritična koncentracija bakterija za formiranje biofilma i suprimirati dalje razmnožavanje.⁵ Razmnožavanje se suprimira različitim signalnim molekulima. Varijacije ovih suprimirajućih molekula su velike i pretpostavlja se da mnogi prirodni antibiotski molekuli, kao eritromicin ili rifampicin su u osnovi ove komunikacije i nisu sintetisani da bi uništili druge mikroorganizme već da kontrolišu rast zajednice aktivirajući ili suprimirajući gene drugih mikroorganizama.⁶ Sazrevanje biofilma je dinamički proces, koji zahteva visok nivo regulatnih signala koji prilagođavaju bakteriju za uslove sredine i menjaju njenu reakciju u odgovoru na povećanu ćelijsku gustinu i delom promena koje sama uzrokuje u mikrookruženju.⁷

Zreo biofilm može opstati u sesilnoj formi dugi vremenski period. Kada se postignu odgovarajući uslovi, biofilm se aktivira i može da se proširi i na drugu lokalizaciju na kojoj će se formirati novi biofilmovi. Disperzija je mehanizam širenja bakterijskog biofilma u inficiranom organu ili čovekovom telu.²

Zašto bakterije formiraju biofilm

Po dosadašnjem znanju više od 99% bakterija u prirodi žive u biofilmovima, a za 80% hroničnih bolesti smatra se da biofilmovi imaju važnu ulogu.⁹ Postoje nekoliko razloga zbog kojih bakterije žive u biofilmovima: biofilm obezbeđuje sigurnu i pogodnu sredinu za različite vrste štiteći ih od nepovoljnih uticaja okruženja kao što su antimikrobni agensi i imunitet domaćina. Volumen ekstracelularnog matriksa smanjuje prodor antibiotika razređujući ga i vezujući ga za sebe pre nego dopre do svih ćelija biofilma. Bezbednost zajednice može biti obezbeđena i nesebičnim principom „svi za nekolicinu“: ukoliko ekstracelularna masa nije dovoljna da zaustavi napad, većina bakterija biće žrtvovana u cilju produkovanja veće biomase barijere koja će štititi mikrobe u sesilnom obliku u dubljim partijama biofilma. Kako je za dejstvo antibiotika neophodan određen stepen ćelije aktivnosti, ova subpopulacija uspavanih, nedelećih mikroba je visoko rezistentna na dejstvo antibiotika. Potom, postoji i genetski determinisana rezistencija na antibiotike i raspodeljena je široko kroz biofilm u horizontalnoj raspodeli gena.

Biofilm u hroničnom rinosinuzitisu

Zbog postojanja otpornosti biofilmovi uzrokuju perzistenciju infekcije. Nakon čini se efikasnog tretmana infekcije biofilmom, sesilne forme mogu preživeti i ostati skriveni tokom dužeg perioda, a potom se ponovo aktivirati kada se stvore pogodni uslovi. Zanimanje za biofilm kao formu bakterijskog rasta prvobitno je započela mikrobiologija životne sredine, a kasnije u industriji gde mase biofilma prouzrokuju stalne probleme sa industrijskim cevovodima i sa ostalom opremom.

Sumnja na infekciju biofilmom treba da postoji kod hronične bolesti i rekurentne infekcije. Tipično za ove slučajeve je sesilni oblik bakterija. Tada je komplikovano izolovati infektivni agens i infekcija biofilmom se postavlja vizuelnim prikazom mikrobne kolonizacije.¹⁰ Tipična zamka u kliničkoj praksi je uzrokovana kultivacijom planktonskog oblika bakterija koji su odvojeni od biofilma. Rezultati mogu pokazati da je infektivni agens osetljiv na antibiotike iako su u biofilmu visokorezistentni.⁹ Za etiološku dijagnostiku biofilma potrebno je utvrditi njegovo prisustvo. Za sada ne postoje specifični markeri, a dijagnostika je još uvek zasnovana na direktnoj mikroskopiji. Postoji nekoliko metoda. Najšire se koristi SEM- *scanning electron microscopy* i CSLM- *confocal scanning laser microscopy*. U osnovi postavljanje dijagnoze vrši se prikazom biofilma na ispitivanom tkivu ili protezi. Fluorescentna *in situ*-hibridizacija koristi se zajedno uz CSLM za mikrobiološku identifikaciju.¹⁴ Identifikacija patogena je limitirana odabirom odgovarajućeg testa koji imaju različitu specifičnost i senzitivnost. Ipak koristeći FISH/CSLM sa testovima za *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* i univerzalnih

gljivičnih elemenata otkriveno je u 77% pacijenata sa CRS prisustvo biofilma.¹⁸ Od detektovanih biofilmova 60% je polimikrobno, 54% sa prisustvom *Staphylococcus aureus* biofilmom, 36% *Haemophilus influenzae*, 31% *Pseudomonas aeruginosa* i 26% gljivičnog biofilma. Određivanje osnovnog agensa u biofilmu kao i detekcija sekundarnih agenasa predstavljaće bitan napredak u terapiji.

Smatra se da je u osnovi patofiziologije razvoja CRS poremećaj mukocilijarnog transporta, što vodi do prestanka drenaže i akumulacije sekreta i zatvaranja začaranog kruga dovodeći do dalje inflamacije.³⁸ Lako je zamisliti da u ovom sistemu konstantni provocirajući faktor, kao mogući bakterijski biofilm, može uzrokovati CRS. U stvari, u mnogim slučajevima CRS postoji klinička slika bolesti sa biofilmom, koji tipično izaziva početno blagu infekciju koja nije u početku životno ugrožavajuća. Antibiotici ublažavaju akutnu simptomatologiju, ali ne uspevaju da eliminišu biofilm. Rezidualni biofilm periodično oslobađa planktonske bakterije, koje izazivaju kliničke relapse. CRS nije klasična bakterijska infektivna bolest, iako bakterije imaju značajnu ulogu u fazama egzacerbacije. Nije moguće isključiti da bakterije i drugi mikroorganizmi mogu biti od značaja u razvoju i/ili održavanju u stanju bolesti. U teškim i refraktarnim oblicima bolesti neophodna je hirurška terapija. Razmatrajući ogroman uticaj koji ima CRS u savremenom društvu, važno je razjasniti moguću ulogu biofilma u razvoju i tretmanu CRS.

Cryer i saradnici prvi su objavili rad o prisustvu biofilma na sinusnoj mukozi pacijenta sa infekcijom *Pseudomonas aeruginosa* i znacima CRS.³⁹ Psaltis i sar.⁴⁰ utvrdili su postojanje biofilma u 44% pacijenata sa CRS, a niti jednog u kontrolnoj grupi. Foreman i sar.⁴¹ prikazali su biofilm u 72% pacijenata sa CRS, a niti jedan u kontrolnoj grupi. *S.aureus* je najčešće prisutan u ovim biofilmovima. Gljivični biofilmovi utvrđeni su u 11/50 slučajeva. Singhal i sar.⁴³ utvrdili su postojanje biofilmova u 77% pacijenata sa CRS. FISH testovi bili su usmereni na detekciju *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* i univerzalni fungalni element. Od detektovanih 60% biofilmova je bilo polimikrobno, a 54% sadržavalo je *Staphylococcus aureus* biofilm. Li i sar.⁴⁴ utvrdio je postojanje biofilma u 59% pacijenata sa CRS, dok u kontrolnoj grupi biofilm nije nađen. Po ovim svežim i metodološki ispravnim publikacijama izgleda ubedljivo da je biofilma prisutan u većini pacijenata sa CRS, dok ih sa druge strane na normalnoj mukozi nema.

Razmatra se nekoliko mogućih bakterijskih mehanizama u razvoju CRS: bakterijski superantigen, aktivacija inflamatornih citokina i osteitis. Biofilm može biti uzročnik, ali direktni dokazi još uvek nedostaju. Ipak, više indirektnih dokaza sugeriše o uticaju biofilma na razvoj bolesti. Psaltis i saradnici⁴⁵ retrospektivno su analizirali postoperativne rezultate nakon FESS hirurgije kod 40 pacijenata sa CRS. Bakterijski biofilmovi utvrđeni su u 50% pacijenata koristeći CSLM. Pacijenti sa prisutnim biofilmom imali su lošiji preoperativni CT nalaz, više i intenzivnije postoperativne simptome i stepen inflamacije mukoze. Dodatno prisustvo gljivica povezano je sa lošijim postoperativnim tokom. Ista grupa istraživača kasnije je u prospektivnoj studiji potvrdila ove nalaze kod 51 pacijenta sa CRS kojima je učinjen FESS. Biofilm je prikazan u 71% ovih pacijenata koristeći BacLight/CSLM.⁴⁶ Pacijenti sa biofilmom imali su teži oblik bolesti (potvrđeno radiološki i endoskopski).

Takođe imali su i izraženiju nosnosinusnu simptomatologiju i endoskopski skor 16 meseci nakon hirurgije, bilo im je poltrebno više kontrolnih pregleda, više primene antibiotske terapije. U kasnijim radovima ista grupa istraživača je u prospektivnoj studijisa 39 pacijenata sa CRS kojima je učinjen FESS utvrđeno postojanje biofilma u 30 pacijenata, a kod polimikrobnih formi(60%) utvrđen je teži oblik bolesti radiološki i endoskopski, kao i učestalije postoperativne kontrole.⁴³ Pacijenti sa *Staphiloccocus aureus* biofilmom naročito slabo su popravljali skor simptoma i vrednosti testova koji se odnose na kvalitet života. U novijoj publikaciji Li i sar⁴⁴ prospektivno su proučavali 27 pacijenata sa CRS u smislu intenziteta preoperativnih simptoma i prisustva biofilma koristeći BacLight/CSLM. Našli su da je u 59% biofilm pozitivnih pacijenata bilo više izražene simptomatologije. Takođe razvili su biofilm skor sistem, koji je pokazao povezanost biofilma i njegove razvijenosti sa težinom simptoma, endoskopskog skora i trajanjem simptoma. Dodatno studije koje su koristile druge metode detekcije biofilma utvrdile su povezanost biofilma i intenziteta CRS ili slabijeg postoperativnog rezultata nakon FESS-a,⁴⁷⁻⁴⁹ što je dodatno u skladu sa idejom da biofilmovi imaju značajnu ulogu u razvoju CRS.

1.4.KVALITET ŽIVOTA U VEZI SA ZDRAVLJEM

Prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji pod kvalitetom života se podrazumeva opažanje pojedinaca o sopstvenom položaju u životu u kontekstu kulturnog i vrednosnog sistema u kojima žive, kao i u odnosu na njihove ciljeve, očekivanja i standarde koji važe u tim sistemima.

U rečniku „Zdravlje za sve za 21 vek” kvalitet života je definisan kao opažanje pojedinaca ili grupa da će njihove potrebe biti prepoznate na vreme i da će biti zadovoljene kako bi se postigle sreća i ispunjenje .

Često se termini blagostanje i zdravstveno stanje koriste kao sinonimi za kvalitet života iako su oni samo pojedinačni aspekti mnogo sveobuhvatnijeg koncepta .

Ispitivanje kvaliteta života i mogućnosti za njegovo unapređenje su od izuzetnog značaja imajući u vidu povećanje očekivanog trajanja života i porast učestalosti hroničnih nezaraznih oboljenja sa kojima su mnogi ljudi prinuđeni da žive.

Osamdesetih godina prošlog veka izdvaja se komponenta sveukupnog kvaliteta života koji je primarno određen zdravljem osobe „kvalitet života u vezi sa zdravljem” (engleski: *Health Related Quality of Life: HRQoL*). Specifičniji je termin od kvaliteta života i pogodniji je za upotrebu, jer reflektuje pacijentovu procenu i zadovoljstvo njegovim sadašnjim stepenom funkcionisanja u poređenju sa onim što on smatra da je moguće ili idealno. Ovaj koncept se koristi da opiše kako pacijent doživljava svoju bolest, odnosno kako težina bolesti može da utiče na njegov kvalitet života .

Za mnoge kliničare kvalitet života u vezi sa zdravljem je novi termin, ali svakako ne i novi koncept. Instrumenti za merenje kvaliteta života u vezi sa zdravljem uključuju upravo ona pitanja koja su lekari postavljali bolesnicima mnogo godina unazad, kako bi sagledali njihovo opšte stanje. Neka od tih pitanja su: Kako se osećate? Da li ste ograničeni u obavljanju dnevnih aktivnosti? Da li Vam to smeta? Da li Vam novi lek pomaže? Na osnovu rezultata uobičajenih kliničkih merenja možemo da dobijemo važne informacije o stanju obolelog organa ili organskog sistema, ali takva merenja retko ukazuju na funkcionalne poremećaje (fizičke, emocionalne i socijalne) do kojih bolest dovodi, a koji su od velikog značaja za bolesnike u njihovom svakodnevnom životu. Da bi se dobila kompletna slika zdravstvenog stanja obolelih, pored uobičajenih kliničkih merenja, neophodno je sprovesti i merenje kvaliteta života u vezi sa zdravljem. Danas se ovakva merenja intenzivno sprovode kod obolelih od različitih bolesti čime je omogućeno uključivanje stava bolesnika u procenu njihovog zdravstvenog stanja, kao i prepoznavanje onih funkcionalnih poremećaja koje bolesnici doživljavaju kao rezultat svoje bolesti. Kliničke intervencije ne treba da budu usmerene samo na lečenje obolelog organa, već da omoguće bolesniku da se bolje oseća i da bolje funkcioniše u svakodnevnom životu. Istraživanja kvaliteta života povezanog sa zdravljem zahtevaju dobro konstruisane upitnike sa svim poželjnim osobinama dobrog instrumenta istraživanja, kao što su objektivnost, senzitivnost, specifičnost, praktičnost i dr.

Većina upitnika za ispitivanje kvaliteta života je nastala na engleskom jeziku i veoma brzo je preuzeta i prevedena na veći broj drugih jezika. Adaptacija upitnika na druge jezike je mnogo kompleksnija od prostog prevoda. Svrha prevoda nije samo literarno jezička konverzija pitanja, već kulturološka adaptacija, tj. adaptacija na uslove različitih podneblja i kultura. Kulturološka adaptacija zahteva upotrebu odgovarajućeg jezika, tako da preveden upitnik bude konceptualno ekvivalentan originalu i razumljiv za bolesnika, što podrazumeva upotrebu jednostavnih, jasnih i lako razumljivih reči i izraza koji se koriste u svakodnevnom govoru. Svi koraci procesa prevođenja i kulturološke adaptacije originalnih upitnika dati su u Internacionalnom metodološkom uputstvu za prevod i kulturološku adaptaciju upitnika. Pošto se od autora originalnog upitnika dobije pismena dozvola za prevod i korišćenje prevedenog upitnika pristupa se njegovom prevođenju. Najpre dva bilingvalna profesionalna prevodioca (kojima je srpski jezik maternji, a dobro znaju engleski jezik) prevode nezavisno jedan od drugog upitnik sa originalnog engleskog na srpski jezik (prevođenje unapred, engl. *forward translations*). Grupa stručnjaka zatim od dve srpske verzije pravi jednu usaglašenu (konsenzus) verziju upitnika. Dva druga bilingvalna profesionalna prevodioca (kojima je engleski jezik maternji, a dobro znaju srpski jezik) prevode usaglašenu srpsku verziju upitnika na engleski jezik (prevođenje unazad, engl. *back translations*). U daljem postupku osoba koja koordinira proces prevođenja poredi prevode unazad sa originalnom verzijom upitnika. Sve uočene razlike koje menjaju smisao pitanja i/ili ponuđenih odgovora se zatim eliminišu, tj. po potrebi se koriguju srpska verzija i prevod unazad. Sledeći korak je testiranje upitnika anketiranjem ispitanika (licem u lice) pri čemu oni prepričavaju pitanja i iznose svoje stavove o njihovoj jasnoći. Uloga osobe koja vrši testiranje je da otkrije sva nerazumevanja ili pogrešne interpretacije pitanja i identifikuje reči ili izraze koji mogu biti neodgovarajući i da sve to zabeleži. Iza toga se vrše nužne promene u srpskoj verziji

upitnika, a zatim se on lektoriše. Lektorisana verzija se smatra finalnom srpskom verzijom upitnika. Prema specifičnim osobinama sve upitnike svrstavamo u dve osnovne grupe: opšte i specifične upitnike.

Opšti upitnici daju najširi obuhvat subjektivnog doživljaja zdravlja pojedinaca, ali često ne odgovaraju specifičnim zahtevima. Dobre osobine ovih upitnika su što omogućuju poređenje kvaliteta života između bolesnih i zdravih, kao i između obolelih od različitih bolesti. Njihove loše osobine su niska senzitivnost pri merenju kvaliteta života kod specifičnih bolesti i/ili specifičnih terapija. Najčešće korišćeni opšti upitnik je SF-36 zdravstvena anketa

Pošto opšti upitnici nisu dovoljno senzitivni za promene u kvalitetu života koje su važne za obolele od određene bolesti, javila se potreba za stvaranjem specifičnih instrumenata samo za jednu grupu bolesti ili samo za jednu određenu bolest, za grupu bolesnika (npr., za starije), ili za određenu funkciju.

Specifični instrumenti merenja su orijentisani na domene koji su značajni za specifičnu bolest/stanje ili na karakteristike pacijenata kod kojih se određena bolest/stanje češće javlja. Njihova prednost je što se fokusiraju na područja funkcionisanja koja su relevantna za određeno oboljenje i kao rezultat toga oni su osetljiviji za male, ali značajne promene. Mana im je nemogućnost poređenja kvaliteta života obolelih od različitih bolesti.

Specifični upitnici za rinosinuzitis

RSOM-31 (*Rhinosinusitis Outcome Measure-31*)

Upitnik RSOM-31 sadrži 31 pitanje podeljeno u 7 domena (nosni, očni, ušni, povezani sa snom, opšti, funkcionalni i emocionalni problemi). Za svaki od simptoma postoje dve skale: intenzitet i značaj. Ovaj upitnik je validiran za brojna govorna područja i u širokoj je upotrebi. Ipak, skale za intenzitet i značaj tegoba na neki način prave poteškoću za razumevanje i popunjavanje upitnika. Iz ovog razloga se češće koristi SNOT upitnik koji sadrži samo skalu intenziteta tegoba.

SNOT -20 (*Sinonasal Outcome Test-20*)

SNOT-20 je modifikacija RSOM-31, i sadrži pitanja koja se odnose na nos, sinuse i opšte tegobe. Ovaj upitnik omogućava izračunavanje dva zbirna skora: totalni i skor značaja koji predstavlja srednji skor pet pitanja koje smatramo značajnim. Ograničenja ovog upitnika su nedostatak dva važna pitanja: opstrukcija nosa i gubitak osećaja mirisa.

SNOT-22 (*Sinonasal Outcome Test-22*)

Uitniku SNOT-20, koji je baziran na RSOM-31 nedostajala su dva važna pitanja : nosna opstrukcija i gubitak mirisa, koji su ponovo uključeni i formiran je upitnik SNOT-22

1.5.FESS – FUNKCIONALNA ENDOSKOPSKA HIRURGIJA SINUSA

Funkcionalna endoskopska hirurgija sinusa – FESS je minimalno invazivna operativna tehnika sačinjena od niza dijagnostičkih i terapijskih intrvencija koja se vrši pod kontrolom endoskopa i uz pomoć specijalno dizajniranih instrumenata

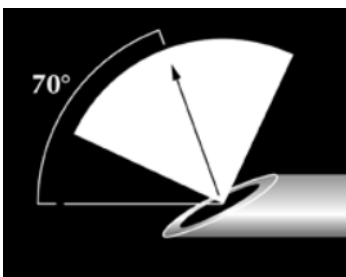
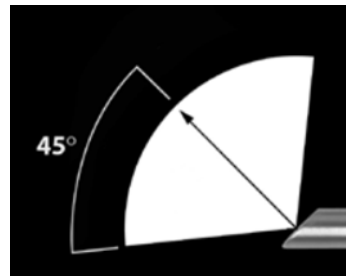
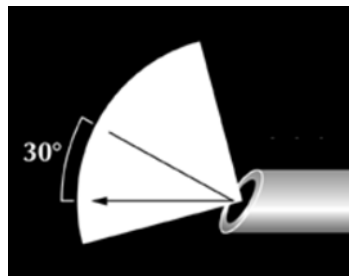
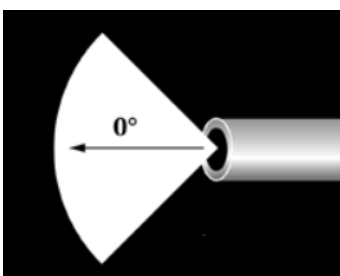
Transnazalna hirurgija sinusa započela je 1886, kada je Mikulicz objavio članak o endonazalnoj fenestraciji maksilarnog sinusa. Hirshman je načinio prve korake u nazalnoj i sinusnoj endoskopiji 1901., koristeći modifikovan cistoskop. Halle je opisao transnazalnu etmoidektomiju 1915 godine, i odmah je uočeno da postoji značajan rizik za pacijenta. Mosherr je 1929.godine endonazalnu etmoidektomiju, zbog rizika za pacijenta, opisao kao jednu od najlakših operacija kojom se može ubiti pacijent.

Ipak Messerklinger je endoskopsku hirurgiju sinusa uvedo u evropsku literaturu 1967. Autor je koristeći glave kadavera vršio impregnaciju mukoze paranazalnih šupljina različitim suspstancama, i koristeći mikroskop i endoskope opisao fiziološke puteve sekreta u paranazalnim sinusima. Zasnovano na ovim istraživanjima i u korelaciji sa operativnim nalazima i promenama u mukocilijarnom transportu, uočeno je da funkcija maksilarnih i čeonih sinusa zavisi od otvora na lateralnom zidu nosa. Normalna ventilacija i drenaža paranazalnih šupljina je osnova za normalnu funkciju, a cilj FESS operacije je upravo uspostavljanje drenaže i ventilacije sinusa. Takođe, Messerklinger² je uočio da uklanjanje primarnog patološkog procesa u prednjim etmoidima minimalno invazivnom endoskopskom procedurom rezultira oporavkom sluznice pridruženih sinusa- maksilarnog i frontalnog, bez direktne hirurške manipulacije u pomenutim šupljinama.

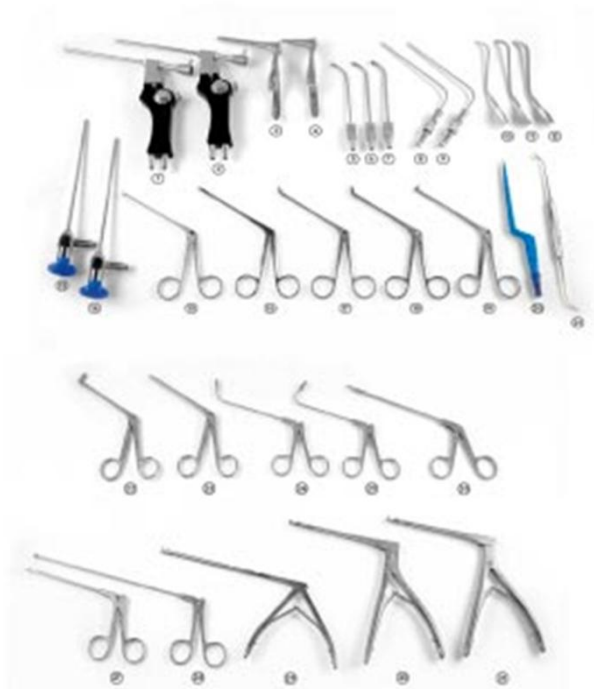
Osamdesetih godina Kenedy je opisao tehniku funkcionalne endoskopske hirurgije sinusa (FESS) u Sjedinjenim državama. Nakon ovih radova počelo je redefinisanje endoskopske tehnike u cilju identifikacije konstantnih anatomskih orjentira kroz etmoidne sinuse i omogućavanja bezbednog ulaska u maksilarne, sfenoidne i frontalne sinuse.

Iako izuzeci postoje, danas se najveći broj rinologa slaže da FESS u lečenju hroničnog rinosinuzitisa treba da bude usmeren ka patološkim promenama uz očuvanje mukoze. Takođe , hirurgija u kombinaciji sa odgovarajućim konzervativnim tretmanom može biti apsolutno minimalno invazivna i korekcija promena u etmoidnim sinusima obično rezultira u ponovnom uspostavljanju drenaže i oporavku mukoze većih sinusa.

Osnovni instrument je endoskop- rigidna optička cev debljine 4mm, sa različitim ugom gledanja: od 0° do 70°, dužine 18cm. Za decu se koriste endoskopi dijametra 2,7mm.



Ostali instrumentarijum konstruisan je za pristup pojedinim delovima nosne duplje i paranazalnim sinusima. Najčešće se koriste hvataljke pod različitim uglovima sa ivicama na vrhu koje su oštre, instrumenti za preparaciju, sonede i aspiracije različitog oblika i pod različitim uglovima, perforatori- grickalice za kost, kirete različitih veličine i pod različitim uglovima. Koriste se i specialno dizajnirani mikro motori sa borerima različite veličine, šejveri različitih dijametara i uglova. Specijalno konstruisani bipolarni kauteri omogućavaju bolju hemostazu tokom operacije.



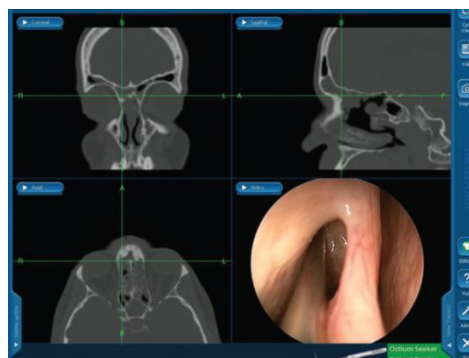
Endoskopska slika pomoću video sistema može da se dobije na monitoru, sa kojeg hirurg prati operaciju ali omogućava i asistentu, anesteziologu i salskom osoblju da prate tok operacije. Na ovaj način moguće je raditi u četiri ruke, što je u nekim specifičnim situacijama neophodno. Dodatno, na monitoru se može prikazati uvećana slika, što je od velike važnosti za preciznu manipulaciju u predelu frontalnog recesusa, optičkog nerva, prednje baze lobanje i drugim mestima sa osetljivim anatomskim strukturama. Monitor omogućava edukaciju i demonstraciju operacije. Omogućava instrumentarki da dodavanje adekvatnog instrumenta bude mnogo efikasnije, a anesteziologu da prati krvarenje u operativnom polju.

Primena navigacionog sistema može omogućiti bezbednije vođenje operacije. Naročito u slučajevima sa otežanim anatomskim odnosima pacijenta, u revizionoj hirurgiji, hirurgiji orbite i maksilarnog sinusa, u slučajevima interdisciplinarne biopsije i resekcije tumora kao i

u procesu edukacije. Ipak treba naglasiti da navigacioni sistem predstavlja pomoćno sredstvo za donošenje odluke i da ne zauzima mesto detaljnog anatomskog znanja.



Primena monitora



Monitor navigacionog sistema

Tokom poslednje dve decenije postoji značajan tehnološki napredak u sprovođenju ove operativne tehnike, a odnosi se pre svega na poboljšanje konstrukcije mikroinstrumenata, video sistema, korišćenja preciznijeg navigacionog sistema.

Tehnika izvođenja

Preoperativno je neophodno da se CT paranazalnih šupljina u sve tri ravni, i naravno da bude sistematski analiziran od strane hirurga. Ne samo u cilju da se izbegnu moguće komplikacije već i da se uoči uzrok i lokalizacija bolesti. U dole navedenoj tabeli su pitanja na koje treba odgovoriti pri analizi CT paranazalnih šupljina, a pre endoskopske operacije nosa i sinusa (H.Stammberger 1994, D. Simmen 1997):

Pitanja za analizu CT paranazalnih šupljina pre FESS-a	
Da li je to CT pravog pacijenta	postoji mogućnost da se analizira CT drugog pacijenta
Da li je pacijentu učinjena neka operacija na PNS nakon što je urađen	
Da li su oznake R/L u saglasnosti sa anatomijom pacijenta	Kriste i spine septuma, kao i druge anatomske karakteristike su korisni orijentiri

<p>Evaluacija lateralnog zida nosa i ostiomeatalnog kompleksa:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anatomija etmoidalnog infundibuluma? • Gde je processus uncinatus? 	Rizik od prodora u orbitu tokom uklanjanja unicantnog procesusa
<p>Anatomija etmoidalne bule?</p> <ul style="list-style-type: none"> • Step en pneumatizacije ili postojanje značajne medijalne protruzije orbite? 	Mogućnost povrede orbite tokom otvaranja bule.
<p>Oblik srednje nosne školjke? Konha buloza? Postoji li nakon ranije operacije?</p>	Anatomska struktura značajna za orijentaciju može nedostajati.
<p>Da li Ager nasi ili druge frontoetmoidalne ćelije sužavaju frontalni recessus?</p>	Može uzrokovati rekurente probleme sa frontalnim sinuom.
<p>Gde je gornji propoj uncinatnog procesusa? Da li je pripoj lateralno na orbitalnom zidu, gore na bazi lobanje ili na srednjoj nosnoj školjci?</p>	Određuje položaj otvora frontalnog sinusa
<p>Postoji li infraorbitalna ćelija? (Haller)</p>	Hallerova ćelija može uzrokovati rekurente probleme sa maksilarnim sinusom
<p>Anatomija prednje baze lobanje? Postoje li asimetrije? Koji je Keros tip?</p>	Keros III tip je povezan sa povećanim rizikom od povrede kribriiformne ploče.
<p>Kakav je položaj prednje etmoidalne arterije?</p>	Povreda arterije može uzrokovati retro ili intrabulbarni hematoma sa rizikom od razvoja slepila.
<p>Postoje li sfenoetmoidalne ćelije (Onodi ćelije)?</p>	Manipulacija u posteriornim etmoidalnim ćelijama može dovesti do povrede prominentnog optičkog nerva ili unutrašnje karotidne arterije
<p>Kakav je oblik karotidnog kanala? Pregrade</p>	Manipulacije mogu dovesti

sfenoidnog sinusa koje su u kontaktu sa karotidnim kanalom?	do povrede karotide.
Postoje li mesta dehiscencija kosti, zbog ranije učinjenih operacija ili posledica povrede?	Dehiscencije su mesta na kojima je moguće lakše povrediti duru ili orbitalni sadržaj.
Da li je izvodljiv endoskopski pristup frontalnom sinusu?	Razmotriti otvorenu hirurgiju.
Postoji li sumnja na likvornu fistulu?	Povećava rizik od povrede dure.

Endoskopska hirurgija sinusa se obično izvodi u opštoj anesteziji. Pacijent je intubiran fleksibilnim enotrahealnim tubusom, koji je osiguran flasterom u srednjo liniji brade. Oro i hipofarinks su tamponirani gazom u cilju prevencije aspiracije i onemogućavajući da se proguta veća količina krvi. Pre početka operacije pacijent se pozicionira sa blago uzdignutim gornjim delom tela čime se sprečava venska staza u predelu glave i vrata. Ovakvim pozicioniranjem smanjuje se i arterijski krvni pritisak, što sve omogućava bolje uslove uza operaciju. Operativno polje treba da bude sa što je moguće manje krvarenja.

Endonazalna endoskopska hirurgija je doživela ekspanziju u dometu i indikacijama, i u velikim centrima obavlja se simultana neuro-rino i rino-neuro- hirurgija

Savemene indikacije za FESS su:

hronični rinosinuzitis, rekurentni sinuzitis, komplikacije rinosinuzitisa (celulitis i absces orbite),

nosno-sinusna polipoza, antrohoanalni polip, mukokele sinusa, ekcizija odabranih tumora, zatvaranje likvorne fistule, orbitalna dekompresija (npr Graves-ova oftalmopatija), dakriocistorhinostomija, operacija hoanalne atrezije, uklanjanje stranog tela, kontrola epistakse, pristup prednjoj, srednjoj i zadnjoj lobanjskoj jami, pristup infratemporalnoj jami, pristup hipofizi, pristup optičkom nervu i orbiti...

Standardni termini i operacije paranazalnih sinusa u okviru FESS-a po D.Simmen-u i N.Jones-u(2005) definisane su u niže postavljenoj tabeli:

Operacija	Opis
Infundibulotomija	Uklanjanje uncinatnog procesusa sa prikazivanjem prirodnog ostijuma maksialrnog sinusa. Izvodni putevi čeonog sinusa su intaktni.
Parcijalna prednja etmoidektomija	Infundibulotomija sa ukalnjajem etmoidalne bule. Ova procedura može da uključuje i uklanjanje Agera nazi, ali intaktan je izvodni put čeonog sinusa.
Etmoidektomija	Parcijalna etmoidektomija je proširena otvaranjem zadnjih etmooida.
Sfenoetmoidektomija	Parcijalna prednja etmoidektomija se proširuje otvaranjem zadnjeg etmoida i otvaranjem sfenoidnog sinusa.
Frontoetmoidektomija	Otvoreni su etmoidalni sinusi i maksilarni sinus, čeonni sinus je otvoren uz očuvanje sluznice Draf je opisao tri procedure proširenja izvodnih puteva čeonog sinusa.
Frontosfenoidektomija	Otvaranje svih paranazalnih sinusa
Antrostomija, frontalna sinusotomija, ili sfenoidotomija	Prirodni otvori maksilarnih , čeonih ili sfenoidnih sinusa su prošireni u različitom stepenu.

KOMPLIKACIJE

Komplikacije FESS-a se mogu klasifikovati na različite načine. Najšire je prihvaćen klasifikacioni sistem Evropskog rinološkog društva, koja je prikazana u sledećoj tabeli:

Lokalizacija/ tip povrede	„Minor“ komplikacija	„Major“ komplikacija
----------------------------------	-----------------------------	-----------------------------

Orbitalna komplikacija	Emfizem orbite Podliv kapaka	Orbitalni hematom Redukcija vizusa/ slepilo Enoftalmus Povreda nazolakrimalnog duktusa
Intrakranijalna komplikacija	Nekomplikovana likvorna fistula	Perzistentna likvorna fistula (Tenzioni-) pneumocefalus Encefalokela Absces mozga Meningitis Subarahnoidalno krvarenje Direktna povreda moždanog tkiva
Krvarenje	Minimalno krvarenje(koje sse zaustavlja tamponadom, bez potrebe za transfuzijom)	Povreda prednje etmoidalne arterije Povreda sfenopalatinalne arterije Povreda unutrašnje karotidne arterije Krvarenje uz potrebnu transfuziju
Drugo	Sinehije Blaga egzacerbacija bronhijalne astme Hiposmija Lokalna infekcija(osteitis) Postoperativan MRSA infekcija Atrofični rinitis	Toksični šok sindrom Anosmija Egzacerbacija bronhijalne astme ili bronhospazam sa izraženim simptomima Smrt

	Parafinom Privremeni nadražaj infraorbitalnog nerva Hipoestezija usne ili zuba	
--	---	--

Rizik od komplikacija povećava se u sledećim situacijama: uznapredovala bolest sinusa koja zahteva ekstenzivniju intervenciju, reviziona operacija, pacijent sa pridruženim bolestima, pacijent sa anatomskim abnormalnostima ili nedostajućim anatomskim strukturama koje služe za orijentaciju tokom operacije, povećan rizik od krvarenja tokom operacije, nedostatak iskustva hirurga.

Po podacima iz literature minor komplikacije sreću se u oko 5% slučajeva, dok se major komplikacije beleže u oko 0,5-1% operisanih pacijenata.

2. CILJEVI ISTAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja su sledeći:

1. Ispitivanje korelacije između preoperativnih kliničkih karakteristika ispitanika sa nosno-sinusnom polipozom i mikrobiloških karakteristika *in vitro* formiranih biofilmova sinusne mukoze.
2. Ispitivanje prediktivne vrednosti mikrobiloških karakteristika *in vitro* formiranih biofilmova sinusne mukoze na uspešnost postoperativnog ishoda i kvalitet života.
3. Kvantifikacija formiranih biofilmova izolovanih bakterija na nazalnim silikonskim splintovima i utvrđivanje uticaja atmosfere inkubiranja, osetljivosti na antibiotike, efekata kortikosteroida i slanog rastvora na sposobnost formiranja ili produkcijubiofilma.

3.MATERIJAL I METODE

3.1. Tip studije i selekcija ispitanika

Istraživanje je po tipu kohortne studije. U studiju su uključeni svi konsekutivni pacijente sa nosno-sinusnom polipozom kod kojih je predloženo operativno lečenje od 1. maja 2014. na Klinici za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije. Ispitivani uzorak čini 45 ispitanika.

Kriterijum za uključivanje ispitanika u studiju je dijagnoza CRS sa polipima kod kojih postoji indikacija za operativno lečenje – FESS, kao i pisana saglasnost ispitanika za učestvovanje u istraživanju.

Kriterijumi za isključivanje iz studije su: pacijenti mlađi od 18 godina, zatim pacijenti sa cilijarnom diskinezijom ili sa imunokompromitovanim stanjima, kao i pacijenti koji su koristili kortikosteroide ili antibiotike dve nedelje pre hirurške intervencije.

3.2. Instrumenti merenja

Preoperativno svaki pacijent je popunito upitnik o težini simptoma hroničnog rinosinuzitisa (nazalna kongestija/opstrukcija, sekrecija iz nosa, stepen oštećenja čula mirisa, glavobolje, osećaj bola/pritiska u licu, kihanje) pomoću široko prihvaćenog vizuelno analognog skor (VAS) sistema. Takođe, pacijentima je procenjen uticaj rinosinuzitisa na kvalitet života korišćenjem SF-36 (engl. Short Form-36) i SNOT-22 (engl. Sino Nasal Outcome Test) upitnika.

Hirurg koji operiše pacijenta svrstao je promene na sluznici nosa i sinusa pacijenta koristeći Lund-Kenedi bodovni sistem.

Svim pacijentima preoperativno je urađena kompjuterizovana tomografija (CT) paranazalnih sinusa, a proširenost CT promena je bodovana po Lund-Mackay sistemu.

Tokom operativnog zahvata uzet je materijal iz paranazalnih sinusa pacijenata za mikrobiološku analizu (u vidu brisa i polipozno izmenjene sluznice radi formiranja tkivnog homogenizata).

Nakon uzorkovanja, materijal je transportovan u mikrobiološku laboratoriju unutar dva sata od uzimanja. Mikrobiološka analiza je urađena od strane nezavisnog istraživača, koji nije imao uvid u istoriju bolesti, upitnike niti u operativni nalaz. Obrada uzoraka (briseva i uzoraka tkiva), kao i izolacija i identifikacija bakterija prisutnih u analiziranom materijalu

izvršena je u skladu sa standardnim operativnim procedurama mikrobiološke dijagnostike. Identifikacija uzoraka izvršena je u skladu sa standardnim mikrobiološkim procedurama, i potvrđena automatskim Vitek2 sistemom(bioMerieux, Francuska).

Osetljivost bakterija na antibiotike analizirana je disk-difuzionom metodom za *S. aureus*(cefoxitin, ciprofloxacina, clindamicin, fusidic acid, erythromycin, gentamicin, mupirocin, penicilin, tetracycline and trimethoprim/sulfamethoxazole (BioRad, USA) i *M. catarrhalis* strains (amoxicillin-clavulanic acid, erythromycin, nalidixic acid, tetracycline and trimethoprim/sulfamethoxazole (BioRad, USA) u skladu sa EUKAST preporukama. Testiranje osetljivosti uzoraka *M. catarrhalis* na cefuroxime i ceftriaxone je učinjeno korišćenjem Etest (bioMerieux, Francuska), i detekcijom produkcije beta- laktamaze korišćenjem Cefinase testa(bioMerieux). Multirezistentnost je definisana kao rezistencija na tri ili više različitih antimikrobnih grupa lekova.

Ispitivanje sposobnost formiranja biofilma izolovanih sojeva bakterija se procenjuje *in vitro* metodom u mikrotitracionim pločama u skladu sa prethodno opisanom metodologijom.¹⁷¹

Pre inokulacije svi uzorci su osvežavani presejavanjem na Trycase-soy agar (TSA; bioMerieux, Charbonniers les Bains, France) Zasejane podloge su inkubirane u aerobnim uslovima tokom 24h na 35°C. Sledećeg dana sojevi su subkultivisani na TSA i inkubirani na 35°C. Potom su pravljene bakterijske suspenzije u sterilnom fiziološkom rastvoru. Gusina suspenzija je precizno podešena na denziometru(bioMerieux, Charbonniers les Bains, France) da odgovara McFarland standardu 0,5. Dobijene suspenzije su inokulisane u TSB razliven u rupice plastičnih mikrotitracionih ploča. Ispitivanje sposobnosti biofilma izvedeno je po metodi Stepanović i saradnika¹⁷² U eksperimentu su korišćene sterilne platične mikrotitracione ploče sa 96 rupica. U rupice ploča je sipano po 230μl TSB i potom je u svaku rupicu dodato po 20μl bakterijske suspenzije. Svaki soj je testiran u triplikatu. Kao negativna kontrola korišćen je nezasejan bujon. Ploče su inkubirane u aerobnim uslovima tokom 24h na 35°C i nakon tog perioda su ispražnjene. Zatim je svaka rupica ispirana tri puta sa po 300μl sterilnog puferovanog fiziološkog rastvora(pH 7,2). Preostale bakterije koje su formirale biofilm fiksirane su sa 250μl metanola po rupici u trajanju od 15 minuta, a zatim su ploče ponovo ispražnjene i ostavljene da se osuše. Posle sušenja na vazduhu, ploče su obojene sa 250μl gencijaneviolet iz seta za bojenje po Gramu(bioMerieux, Charbonniers les Bains, France) po rupici u trajanju od 5 minuta. Nakon bojenja, sadržaj svake rupice je ispražnjen i potom suploče dobro ispirane pod mlazom tekuće vode. Nakon što su ploče osušene, boja vezana za biofilm rastvorena je sa 250μl 33%(v/v) glacijalne sirćetne kiseline po rupici u toku 3-4 h.

Optička gustina (OG) je očitavana na automatizovanom Multiskan EX(Labsystems, Helsinki, Finland) čitaču korišćenjem filtera talasne dužine od 570nm.

Na osnovu izmerene OG formiranog biofilma, svi sojevi bakterija su klasifikovani u sledeće kategorije: ne formiraju biofilm(0), slabo formiraju biofilm(+), umereno formiraju biofilm(++) i intenzivno formiraju biofilm(+++).

Podela je izvršena prema sledećoj šemi:

$OG \leq OG_c$ Sojevi ne stvaraju biofilm

$OG_c < OG \leq 2 \times OG_c$ Sojevi stvaraju malu količinu biofilma

$2 \times OG_c < OG \leq 4 \times OG_c$ Sojevi stvaraju umerenu količinu biofilma

$4 \times OG_c < OG$ Sojevi stvaraju veliku količinu biofilma

- Cut-off OG (OG_c) pšredstavlja graničnu vrednost optičke gustine koja se dobija kada se na srednju vrednost negativne kontrole(OG rupica u kojima se nalazi samo bujon) dodaju 3 standardne devijacije.

Kvantifikacija biofilma na silikonskim nosnim splintovima

Za detekciju i kvantifikaciju produkcije biofilma, suspenzije kultura *S.aureus* i *M.catarrhallisu* pripremljene u sterilnom slanom rastvoru i prilagođene gustini od 0.5 po McFarland standardu. Svi uzorci *S.aureusi* tri uzorka *M.catarrhallis* uključeni u ovaj segment istraživanja su intraoperativni izolati, dok dodatnih dvanaest uzoraka *M.catarrhallis* potiče iz kolekcije Instituta za mikrobiologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Povećanje ispitivanih uzoraka *M.catarrhallis* izvršeno je zbog mogućnosti poređenja adhezivnih karakteristika dve različite vrste koje su česti kolonizatori nazalne sluznice.

Preliminarna analiza sposobnosti kultura da formiraju biofilm procenjena je korišćenjem mikrotitracionih metoda 96- komornih polistiren pločica (Sartstedt, USA).

Kapacitet produkcije *S.aureus* i *M.Catarrhalis* sojeva je testirana na silikonskim nosnim splintovima(Websinger, Wolkerdorf, Austria). Silikonski splintovi su pod aseptičnim uslovima isečeni na delove od 1cm i postavljeni u izdvojene komore u 24-komornim mikrotitracionim pločicama(Sarstedt), sa 1800 μ L of tryptic soy broth (bioMérieux) u koju je dodatno 1% glukoza. Dve stotine μ L prethodno pripremljene bakterijske suspenzije je dodato u svaku komoru. Negativne kontrole za svaku pločicu predstavljao je samo medijum sa i bez silikonskih splintova. Nakon dvadesetčetvoročasovne inkubacije na 35°C pod aerobnim uslovima, pločice sa silikonskim splintovima su dekantovane i nežnopotopljene tri puta sa 2000 μ L fosfatno puferovanog slanog rastvora(PH 7,2). Nakon sušenja na vazduhu , pločice sa silikonskim splintovima su fuksirane sa 2000 μ L metanola po komori u trajanju od 20 minuta, osušene i bojene sa 2000 μ L 2% kristalnim violetom po svakoj komori u trajanju od 15 minuta. Potom su isprani vodom.Nakon sušenja na vazduhu, silikonski splintovi su premešteni u novu 24-komornu mikrotitracionu pločicu a potom

tretirani sa 2000 μ L 96% etanolom po komori, tokom 20 minuta na sobnoj temperature, uz blago mešanje. Potom su premešteni u 96-komornu mikrotitracionu pločicu (150 μ L po komori) uz merenje optičkog denziteta na 570nm, koristeći mikrotitracioni čitač (ICN Flow Titertek Multiscan Plus, Germany). Rezultati su tumačeni po preporukama Stepanovića i saradnika. Svaki esej je ponavljan tri puta u tri uzastopna dana. Optička gustina negativnih kontrola (silikonski splintovi kultivisani umedijumu bez bakterija) su oduzimate od izmerenih optičkih gustina uzoraka i srednja vrednost dobijena iz tri ponavljanja je izračunavana. Za izračunavanje kategorije produkcije biofilma kut-off (ODc) optičke gustine definisana je u vrednosti tri standadne devijacije iznad srednje optičke gustine negativne kontrole. Po dobijenim rezultatima svi uzorci su podeljeni u četiri grupe: : $OD \leq ODc$ - kategorija 0 (bez produkcije biofilma), $ODc < OD \leq 2xODc$ - kategorija 1(slaba produkcija biofilma, +), $2xODc < OD \leq 4xODc$ - kategorija 2umerena produkcija biofilma++), $4xODc < OD$ - kategorija 3(intenzivna produkcija biofilma ,+++).

Ispitivan je uticaj različitih faktora na sposobnost formiranja i produkciju biofilma:

1. uticaj atmosfere inkubiranja (aerobna, anaerobna i mikroaerofilna),
2. uticaj antibakterijskih lekova,
3. uticaj kortikosteroida,
4. uticaj slanih rastvora koji se koriste u terapiji CRS.

Ispitivanje uticaja atmosfere inkubiranja na sposobnost formiranja biofilma

Uticaj atmosfere inkubiranja na sposobnost formiranja biofilma je ispitivana inkubiranjem inokulisanih mikrotitracionih ploča u aerobnim uslovima, anaerobnim uslovima obezbeđenih sa Genbox anaerobnim sistemom (bioMerieux, Marcy-l Etoile, France), atmosferi sa 5-8% CO₂ obezbeđenoj sa GENbox CO₂ sistemom (bioMerieux, Marcy-l Etoile, France) i mikroaerofilnim uslovima obezbeđenim sa GENbox mikroaerofilnim sistemom (bioMerieux, Marcy-l Etoile, France).

Ispitivanje uticaja subinhibitornih doza antibiotskih lekova na formiranje biofilma

Primenom opisane metode u mikrotitracionim pločama ispitivano je dejstvo subinhibitornih doza levofloksacina i amoksiklava na formiranje biofilma. Korišćene su koncentracije antibiotika od 0,03 μ g/ml, 0,25 μ g/ml i 0,50 μ g/ml

Ispitivanje uticaja antibiotka na dvadesetčetvoročasovni biofilm

Primenom opisane metode u mikrotitracionim pločama ispitivano je dejstvo levofloksacina i amoksiklava na biofilma koji se već formirao tokom prethodnih dvadeset četiri časa.. Korišćene su koncentracije antibiotika od 4, 8, 16, 32 i 64µg/ml.

Ispitivanje uticaja topikalnih kortikosteroida na formiranje biofilma

Primenom opisane metode u mikrotitracionim pločama ispitivano je dejstvo mometazon furoata i flutikazon furoata.

Ispitivanje uticaja slanih rastvora na sposobnost formiranja biofilma

Uticaj različitih slanih rastvora ispitivan je korišćenjem TSB kome je dodat izotoni i hipertoni rastvor morske vode (Aqua Maris i Aqua Maris Strong rastvor, JGL).

Uklonjeni polipi i izmenjena sluznica su histološki analizirani od strane nezavisnog istraživača, koji neće imati uvid u istoriju bolesti i upitnike. Pored standardnog Hematoxylin-Eosin (HE) bojenja preparata primenjeno je i bojenje Gimzom.

3.3. Način praćenja ispitanika

Pacijenti će nakon operacije su kontrolisani od strane svog hirurga, kome neće biti poznati mikrobiološki parametri, kako bi se smanjila mogućnost informacione pristrasnosti. Kao standardna postoperativna nega podrazumevaju se kontrole na 2 nedelje, 4 nedelja, 12 nedelja i 24 nedelje. Tokom perioda praćenja svim ispitanicima će biti procenjen stepen težine prisutnih simptoma, kao i postoperativni kvalitet života. Prisustvo promena na nosnosinusnoj mukozni gradiraće se endoskopski od strane istog hirurga po Lund-Kenedi sistemu. Svako odstupanje od standardne postoperativne nege biće notirano.

U periodu od maja 2014 i decembra 2014 po 15 uzoraka *S.aureus* i *M.Cataarralis* koji su izolovani iz tkivnih uzoraka i briseva pacijenata tokom endoskopske operacije – FESS-a, na Klinici za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije. Studija je odobrena od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu. Svi pacijenti su informisani i potpisali su pristanak za učestvovanje u studiji.

3.4. Statistička analiza

Dobijeni podaci su obrađeni i prikazani na tabelama i grafikonima uz propratnu diskusiju istih a u zavisnosti od prirode posmatrane varijable.

Deskripcija numeričkih obeležja u našem radu urađena je klasičnim metodama opisne statistike i to aritmetičkom sredinom, i medijanom od srednjih vrednosti, a od mera varijabiliteta standardnom devijacijom, koeficijentom varijacije i standardnom greškom, kao i minimalnom i maksimalnom vrednoscu. Relativni brojevi su korišćeni u svim tabelama.

Distribucija numeričkih varijabli u našem radu proverena je testom po Kolmogorov Smirnovu, a testirana je normalna raspodela. Kod varijabli koje su zadovoljile ovaj kriterijum, odnosno imale normalnu raspodelu, u njihovoj daljoj analizi korišćene su parametarske metode, odnosno ako nisu, neparametarske.

U analizi rezultata, u zavisnosti od prirode samih varijabli, korišćeni su Pirsonov hi kvadrat test, i to u obliku testova slaganja i tablica kontingencija, za poređenje razlike između učestalosti kod neparametarskih obeležja i to za jedno odnosno dva obeležja.

Za poređenje prosečnih vrednosti parametarskih obeležja upotreбили smo Studentov t test za dve grupe podataka. Kao neparametarske dopune kod nezavisnih uzoraka primenjen je test sume rangova a kod zavisnih test ekvivalentnih parova i to naročito kod podataka dobijenih iz mikrobiološke laboratorije.

Kod analize povezanosti naših karakteristika upotrebljene su metode jednostruke parametarske korelacije i regresije, kao i neparametarska korelacija naravno u zavisnosti od raspodele podataka.

Prilikom validacije analiziranih upitnika primenjen je Kronbahov α koeficijent, čija vrednost od preko 0.600 je smatrana značajnom. U istom cilju primenjena je i faktorska analiza sa idejom da seproveri neophodnost svih primenjenih upitnika, odnosno u cilju njihovog eventualnog smanjenja i provere kvaliteta pitanja u našoj sredini.

U svim primenjenim analitičkim metodama nivo značajnosti bio je 0,05.

Za pravljenje baze i obradu podataka upotrebljen je program SPSS 20.0 Katedre za medicinsku statistiku i informatiku Medicinskog fakulteta u Beogradu.

4. REZULTATI

4.1. Demografski podaci

Ispitivano je ukupno 48 bolesnika oba pola srednjeg životnog doba, i to klinički, biohemijski imetodom upitnika u pet vremena i to preoperativno, mesec dana, 3 meseca, 6 i 12 meseci nakon operacije.

Od ukupno 48 pacijenata 37 bilo je muškog, a 11 ženskog pola. Prosečna starost ispitivane populacije bila je 45 godina, sa rasponom od 18 do 63 godine. Dvadeset i sedam pacijenata je bilo sa bronhijalnom astmom, i sedam je alergično na aspirin. Više od dve trećine ispitanika su nepušači. Osnovni demografski podaci i vrednosti skorova prikazani su u tabeli broj 1.

Tabela broj 1- osnovni demografski podaci i vrednosti skorova ispitanika

Broj pacijenata	Starost (godine) (Raspon)	Pol Muškarci: žene	VAS skor	Lund-Mackay CT skor	LUND – Kennedy endoskopski skor
48	45 (18-63)	37:11	6.7±1.5	14.1±7.6	8.2±2.5

4.2. Rezultati upitnika SF36

Tabela broj 2 -Skorovi upitnika SF 36 i njihovi deskriptivni parametri

	n	Minimum	Maksimum	prosek	SD
PHYSICALFUNCT0	48	30.00	100.00	79.7917	16.91526
PHYSICALFUNCT1	43	5.00	100.00	84.1860	21.57297
PHYSICALFUNCT3	38	40.00	100.00	86.3158	15.14275
PHYSICALFUNCT6	33	20.00	100.00	82.1212	24.11011
PHYSICALFUNCT12	28	40.00	100.00	85.3571	16.71817
PHYSICALHEALTH0	48	.00	100.00	48.4375	44.18477

PHYSICALHEALTH1	43	.00	100.00	77.3430	34.42193
PHYSICALHEALTH3	38	.00	100.00	78.2895	34.47044
PHYSICALHEALTH6	33	.00	100.00	76.5152	34.76449
PHYSICALHEALTH12	28	.00	100.00	75.8929	39.95492
EMOTIONALPROBLEM0	48	.00	100.00	61.8056	43.48288
EMOTIONALPROBLEM1	43	.00	100.00	84.4961	32.81247
EMOTIONALPROBLEM3	38	.00	100.00	78.9474	36.69618
EMOTIONALPROBLEM6	33	.00	100.00	76.7677	39.51516
EMOTIONALPROBLEM12	28	.00	100.00	76.1905	39.39579
ENERGY0	48	30.00	100.00	65.9375	21.22965
ENERGY1	43	40.00	100.00	78.9535	16.74594
ENERGY3	38	25.00	100.00	76.4474	19.62169
ENERGY6	33	30.00	100.00	76.9697	16.53308
ENERGY12	28	30.00	100.00	77.8571	16.24059
EMOTIONWELL0	48	28.00	100.00	70.9167	21.96693
EMOTIONWELL1	43	40.00	100.00	82.2326	15.05045
EMOTIONWELL3	38	28.00	100.00	78.4211	19.13908
EMOTIONWELL6	33	32.00	100.00	83.0303	15.55732
EMOTIONWELL12	28	20.00	100.00	81.0000	17.02721
GENERALHEALTH0	48	15.00	100.00	61.5625	21.21712
GENERALHEALTH1	43	25.00	100.00	67.9349	20.16719
GENERALHEALTH3	38	25.00	100.00	69.3421	20.70289
GENERALHEALTH6	33	15.00	100.00	68.9394	20.45412
GENERALHEALTH12	28	30.00	100.00	64.6429	18.99944
SOCIALFUNC0	48	25.00	100.00	70.5729	23.56092

SOCIALFUNC1	43	37.50	100.00	86.6279	18.57965
SOCIALFUNC3	38	25.00	100.00	84.2895	21.16845
SOCIALFUNC6	33	25.00	100.00	85.6061	21.45153
SOCIALFUNC12	28	50.00	100.00	85.7143	19.15890

Skorovi upitnika SF 36 za bol i njihovi deskriptivni parametri

	n	Minimum	Maksimum	prosek	SD
PAIN0	48	12.50	100.00	71.7708	26.44725
PAIN1	43	32.50	100.00	84.0116	18.60571
PAIN3	38	22.50	100.00	84.5395	19.58053
PAIN6	33	32.50	100.00	84.6970	19.00614
PAIN12	28	45.00	100.00	81.5179	20.02706

Metodom po Kolmogorov Smirnovu proveravana je normalna raspodela skorova, i u svim situacijama z je bilo manje od 1.96 a $p > 0.05$, tako da je bilo opravdano primenjivati parametarske metode u daljoj analizi. Ipak, zbog relativno malog broja ispitanika, svi rezultati su podvrgnuti i neparametarskim proverama.

T-Test po polu za upitnik SF 36

Tabela broj 3.- Skorovi upitnika SF 36 u odnosu na pol ispitanika i njihovi deskriptivni parametri

skorovi SF 36 upitnika	pol	n	prosek	SD	SE
PHYSICALFUNCT0	ženski	22	82.2727	17.70978	3.77574
	muški	26	77.6923	16.26227	3.18929
PHYSICALFUNCT1	ženski	21	87.1429	19.59410	4.27578

	muški	22	81.3636	23.41051	4.99114
PHYSICALFUNCT3	ženski	18	86.9444	15.54300	3.66352
	muški	20	85.7500	15.15490	3.38874
PHYSICALFUNCT6	ženski	16	83.4375	26.25000	6.56250
	muški	17	80.8824	22.65470	5.49457
PHYSICALFUNCT12	ženski	14	90.7143	10.71612	2.86400
	muški	14	84.0000	20.09592	5.37086
PHYSICALHEALTH12	ženski	14	71.0714	27.04544	7.22820
	muški	14	60.7143	45.69368	12.21215
PHYSICALHEALTH6	ženski	16	84.3750	30.10399	7.52600
	muški	17	69.1176	38.04747	9.22787
PHYSICALHEALTH3	ženski	18	79.1667	37.62235	8.86767
	muški	20	77.5000	32.34274	7.23206
PHYSICALHEALTH1	ženski	21	84.5238	31.10083	6.78676
	muški	22	70.4886	36.71175	7.82697
PHYSICALHEALTH0	ženski	22	48.8636	44.63961	9.51720
	muški	26	48.0769	44.67834	8.76214
EMOTIONALPROBLEM0	ženski	22	62.1212	46.34293	9.88035
	muški	26	61.5385	41.83811	8.20513
EMOTIONALPROBLEM1	ženski	21	88.8889	30.42903	6.64016
	muški	22	80.3030	35.12501	7.48868
EMOTIONALPROBLEM3	ženski	18	83.3333	34.77284	8.19604

	muški	20	75.0000	38.80526	8.67712
EMOTIONALPROBLEM6	ženski	16	87.5000	34.15650	8.53913
	muški	17	66.6667	42.49183	10.30578
EMOTIONALPROBLEM12	ženski	14	92.8571	26.72612	7.14286
	muški	14	89.5238	13.71346	4.68291
ENERGY12	ženski	14	79.6429	7.71220	2.06117
	muški	14	76.0714	21.94211	5.86427
ENERGY6	ženski	16	77.8125	14.82889	3.70722
	muški	17	76.1765	18.41615	4.46657
ENERGY3	ženski	18	74.4444	15.70771	3.70234
	muški	20	78.2500	22.84242	5.10772
ENERGY1	ženski	21	79.5238	16.19450	3.53393
	muški	22	78.4091	17.61941	3.75647
ENERGY0	ženski	22	63.6364	18.20399	3.88110
	muški	26	67.8846	23.67163	4.64239
EMOTIONWELL0	ženski	22	70.1818	17.57606	3.74723
	muški	26	71.5385	25.43263	4.98775
EMOTIONWELL1	ženski	21	84.3810	12.83151	2.80006
	muški	22	80.1818	16.94708	3.61313
EMOTIONWELL3	ženski	18	77.5556	18.41426	4.34028
	muški	20	79.2000	20.21360	4.51990
EMOTIONWELL6	ženski	16	83.0000	14.78738	3.69685

	muški	17	83.0588	16.70505	4.05157
EMOTIONWELL12	ženski	14	82.2857	13.00549	3.47586
	muški	14	79.7143	20.72319	5.53851
GENERALHEALTH12	ženski	14	66.4286	17.80542	4.75870
	muški	14	62.8571	20.63551	5.51507
GENERALHEALTH6	ženski	16	68.1250	18.15443	4.53861
	muški	17	69.7059	22.94495	5.56497
GENERALHEALTH3	ženski	18	67.5000	19.79676	4.66614
	muški	20	71.0000	21.86080	4.88822
GENERALHEALTH1	ženski	21	67.3810	19.59713	4.27645
	muški	22	68.4636	21.14408	4.50793
GENERALHEALTH0	ženski	22	56.5909	15.07018	3.21297
	muški	26	65.7692	24.80695	4.86504
SOCIALFUNC0	ženski	22	69.8864	19.91765	4.24646
	muški	26	71.1538	26.63861	5.22426
SOCIALFUNC1	ženski	21	88.6905	15.76426	3.44004
	muški	22	84.6591	21.10483	4.49957
SOCIALFUNC3	ženski	18	85.5833	20.38111	4.80387
	muški	20	83.1250	22.31466	4.98971
SOCIALFUNC6	ženski	16	89.0625	18.18596	4.54649
	muški	17	82.3529	24.22987	5.87661
SOCIALFUNC12	ženski	14	91.0714	15.83309	4.23157

	muški	14	80.3571	21.20997	5.66860
PAIN12	ženski	14	83.3929	19.47896	5.20597
	muški	14	79.6429	21.11910	5.64432
PAIN6	ženski	16	86.2500	17.63047	4.40762
	muški	17	83.2353	20.64894	5.00810
PAIN3	ženski	18	88.0556	13.99988	3.29980
	muški	20	81.3750	23.43068	5.23926
PAIN1	ženski	21	84.2857	18.55975	4.05007
	muški	22	83.7500	19.08237	4.06838
PAIN0	ženski	22	67.1591	27.00634	5.75777
	muški	26	75.6731	25.84142	5.06792

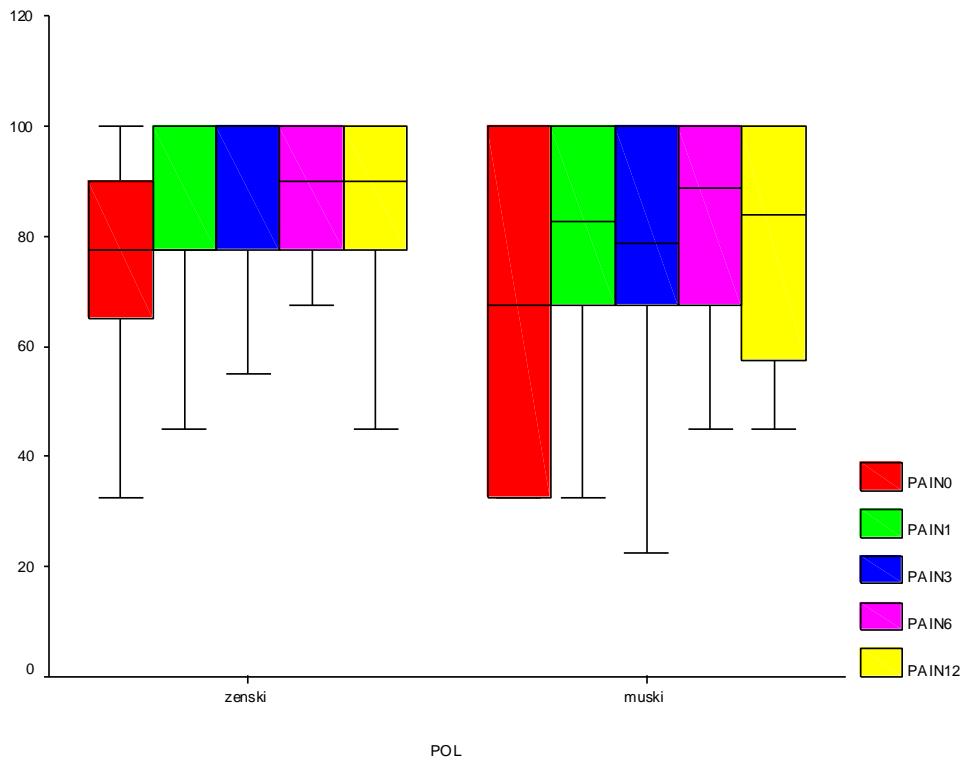
Tabela broj 4. -Rezultati testa i značajnost za poređene skorove upitnika SF 36 u odnosu na pol ispitanika

Obeležja	parametri testa		
	t	df	p
PHYSICALFUNCT0	.933	46	.355
PHYSICALFUNCT1	.876	41	.386
PHYSICALFUNCT3	.240	36	.812
PHYSICALFUNCT6	.300	31	.766
PHYSICALFUNCT12	1.760	26	.090
PHYSICALHEALTH12	1.139	26	.142
PHYSICALHEALTH6	1.272	31	.213

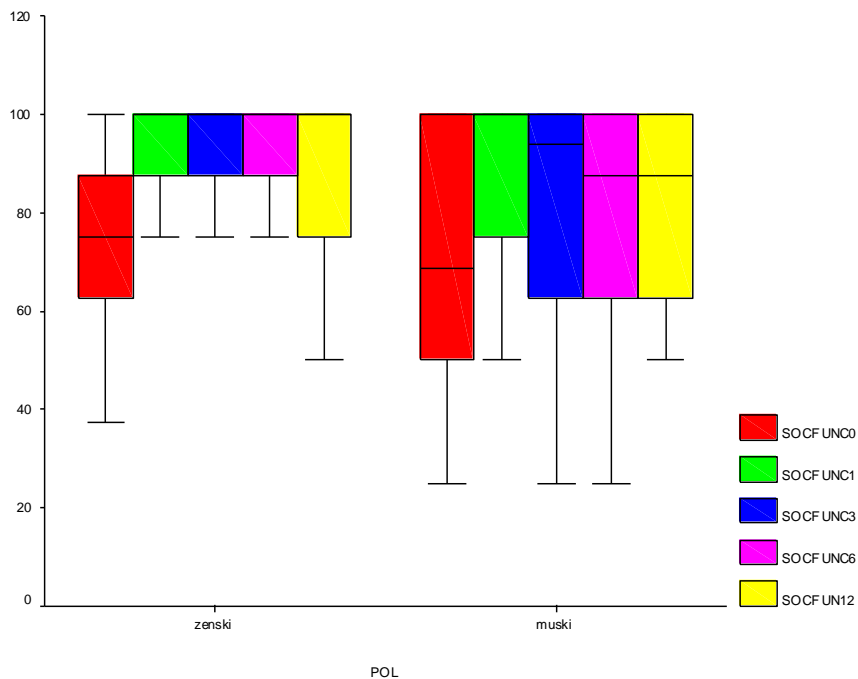
PHYSICALHEALTH3	.147	36	.884
PHYSICALHEALTH1	1.350	41	.185
PHYSICALHEALTH0	.061	46	.952
EMOTIONALPROBLEM0	.046	46	.964
EMOTIONALPROBLEM1	.855	41	.398
EMOTIONALPROBLEM3	.694	36	.492
EMOTIONALPROBLEM6	1.546	31	.132
EMOTIONALPROBLEM12	1.434	26	.122
ENERGY12	.575	26	.571
ENERGY6	.280	31	.781
ENERGY3	-.592	36	.558
ENERGY1	.216	41	.830
ENERGY0	-.687	46	.496
EMOTIONWELL0	-.211	46	.834
EMOTIONWELL1	.913	41	.367
EMOTIONWELL3	-.261	36	.795
EMOTIONWELL6	-.011	31	.992
EMOTIONWELL12	.393	26	.697
GENERALHEALTH12	.490	26	.628
GENERALHEALTH6	-.219	31	.828
GENERALHEALTH3	-.515	36	.610
GENERALHEALTH1	-.174	41	.863
GENERALHEALTH0	-1.514	46	.137
SOCIALFUNC0	-.184	46	.855
SOCIALFUNC1	.707	41	.484

SOCIALFUNC3	.353	36	.726
SOCIALFUNC6	.895	31	.378
SOCIALFUNC12	1.515	26	.142
PAIN12	.488	26	.629
PAIN6	.450	31	.656
PAIN3	1.052	36	.300
PAIN1	.093	41	.926
PAIN0	-1.114	46	.271

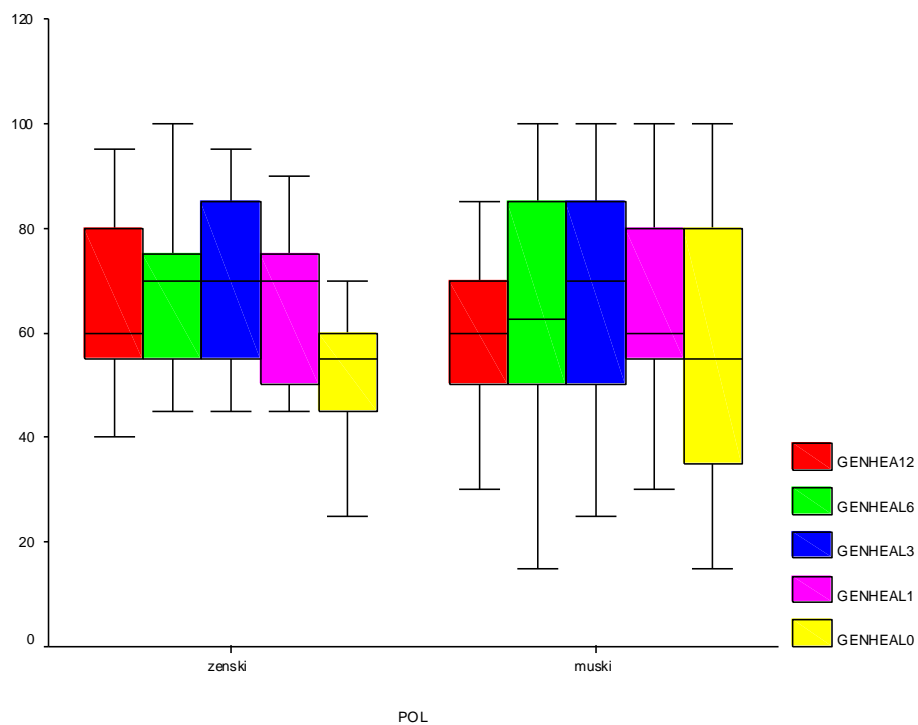
Grafikon broj 1. Promene skora bola u odnosu na pol naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



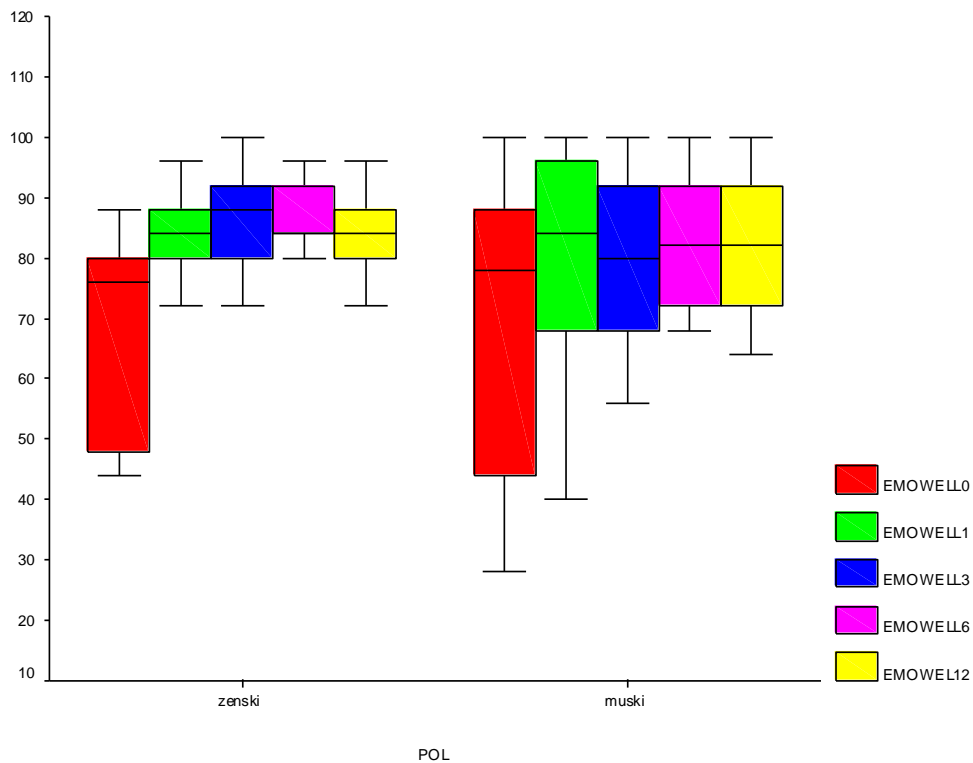
Grafikon broj 2. Promene skora socijalne funkcije u odnosu na pol naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



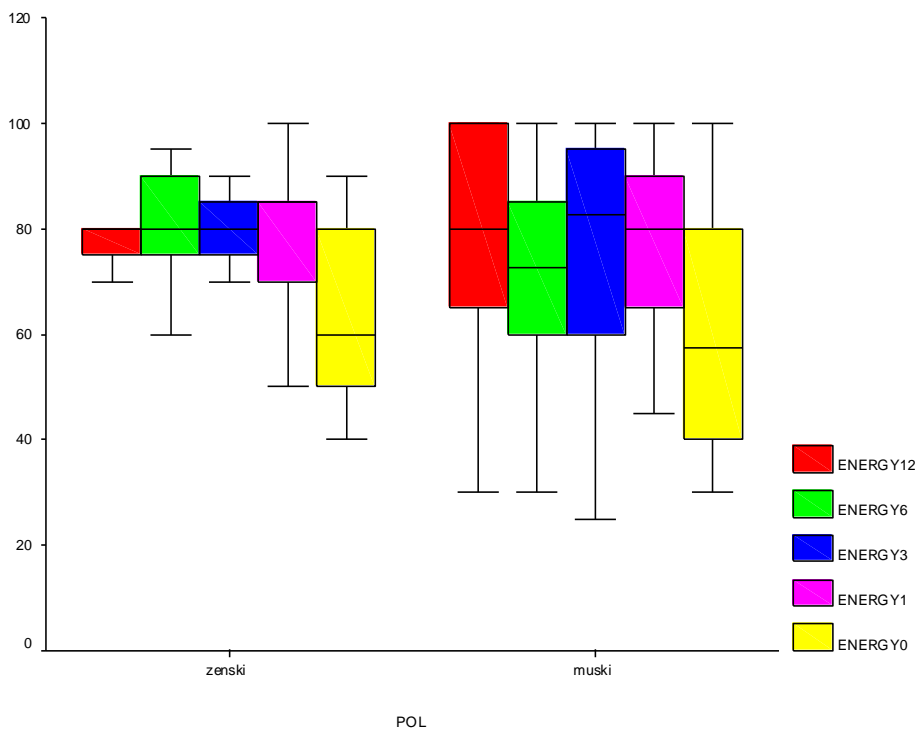
Grafikon broj 3. Promene skora generalnog zdravlja u odnosu na pol naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



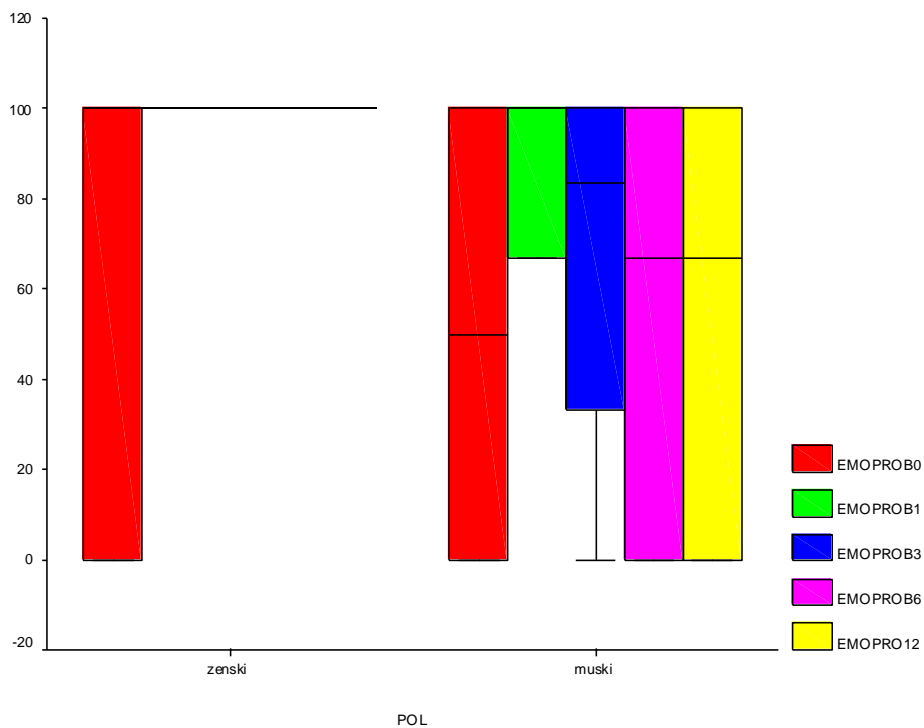
Grafikon broj 4. Promene skora emocionalnog zdravlja u odnosu na pol naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



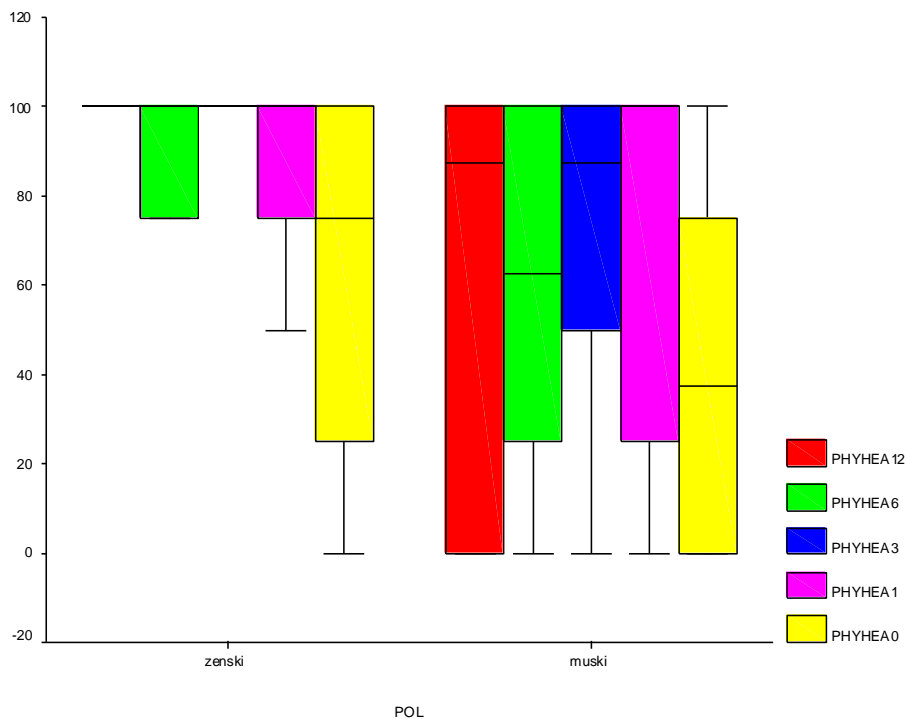
Grafikon broj 5. Promene skora energije u odnosu na pol naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



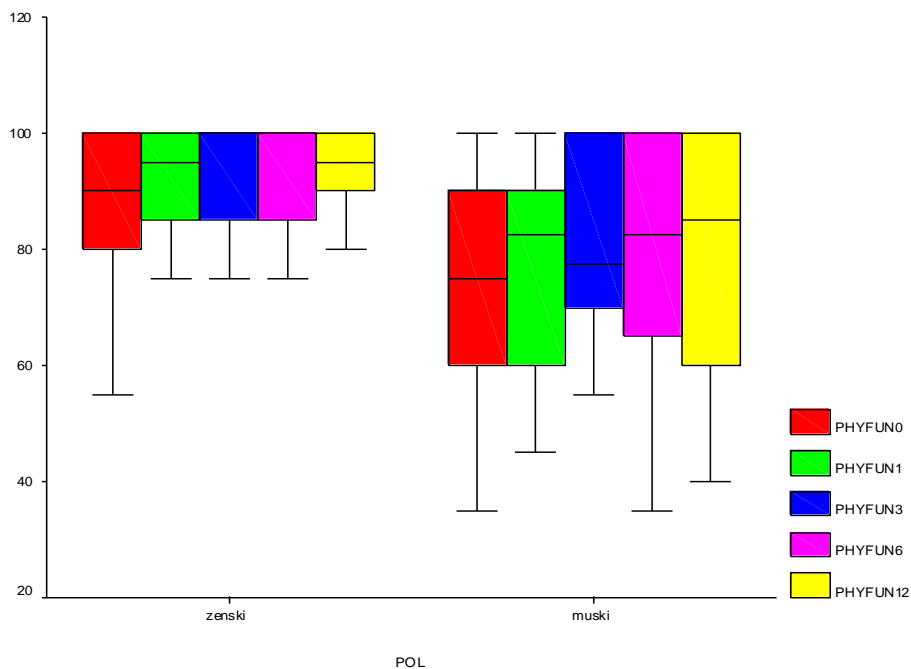
Grafikon broj 6. Promene skora emocionalnih problema u odnosu na pol naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



Grafikon broj 7. Promene skora psihičkog zdravlja u odnosu na pol naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



Grafikon broj 8. Promene skora psihičkog funkcionisanja u odnosu na pol naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



U svim slučajevima, odnosno kod svih analiziranih skorova (njih sedam koji čine SF 36 upitnik), uvek je analiza razlike po polu pokazivala da ona nije statistički značajna. To dovodi do zaključka da je početno stanje naših ispitanika, preoperativno, bilo jednako teško i kod muškaraca i žena, a i da je oporavak ma kako ga merili potpuno nezavisan od pola, i uvek značajan samo u prvom mesecu posle operacije, a posle toga samo se mogu registrovati diskretne promene skorova SF 36 upitnika. Svi rezultati su prikazani na gornjim tabelama i grafikonima.

Poredjenja skorova u vremenu odnosno njihovih promena u 5 vremenskih posmatranih tačaka

Tabela broj 5. Deskriptivni parametri za poređene skorove bola sa upitnika SF 36

	n	prosek	SD	Minimum	Maksimum
PAIN0	48	71.7708	26.44725	12.50	100.00
PAIN1	43	84.0116	18.60571	32.50	100.00
PAIN3	38	84.5395	19.58053	22.50	100.00
PAIN6	33	84.6970	19.00614	32.50	100.00

PAIN12	28	81.5179	20.02706	45.00	100.00
--------	----	---------	----------	-------	--------

Tabela broj 6. Rezultati testa i značajnost za poređene parove skorova bola sa upitnika SF 36

		t	df	p
Pair 1	PAIN0 - PAIN1	3.362	42	0.002**
Pair 2	PAIN1 - PAIN3	0.462	37	0.647
Pair 3	PAIN3 - PAIN6	0.467	32	0.644
Pair 4	PAIN6 - PAIN12	1.012	26	0.321

Tabela broj 7. Deskriptivni parametri za poređene skorove socijalnog funkcionisanja sa upitnika SF 36

		prosek	n	SD	SE Prosek
Pair 1	SOCIALFUNC0	69.7674	43	22.85965	3.48606
	SOCIALFUNC1	86.6279	43	18.57965	2.83337
Pair 2	SOCIALFUNC1	86.5132	38	19.57780	3.17594
	SOCIALFUNC3	84.2895	38	21.16845	3.43398
Pair 3	SOCIALFUNC3	85.2273	33	21.75291	3.78669
	SOCIALFUNC6	85.6061	33	21.45153	3.73423
Pair 4	SOCIALFUNC6	84.7222	27	20.89734	4.02169
	SOCIALFUNC12	85.1852	27	19.31428	3.71703

Tabela broj 8. Rezultati testa i značajnost za poredene parove skorova socijalnog funkcionisanja sa upitnika SF 36

		t	df	p
Pair 1	SOCIALFUNC0 - SOCIALFUNC1	5.857	42	0.000**
Pair 2	SOCIALFUNC1 - SOCIALFUNC3	0.765	37	0.449
Pair 3	SOCIALFUNC3 - SOCIALFUNC6	0.205	32	0.839
Pair 4	SOCIALFUNC6 - SOCIALFUNC12	0.124	26	0.903

Tabela broj 9. Deskriptivni parametri za poredene skorove generalnog zdravlja sa upitnika SF 36

		prosek	n	SD	SE Prosek
Pair 1	GENERALHEALTH0	59.5349	43	20.95386	3.19543
	GENERALHEALTH1	67.9349	43	20.16719	3.07547
Pair 2	GENERALHEALTH1	67.1368	38	20.40398	3.30996
	GENERALHEALTH3	69.3421	38	20.70289	3.35845
Pair 3	GENERALHEALTH3	68.6364	33	20.62586	3.59050
	GENERALHEALTH6	68.9394	33	20.45412	3.56061
Pair 4	GENERALHEALTH6	67.0370	27	19.91613	3.83286
	GENERALHEALTH12	63.7037	27	18.68734	3.59638

Tabela broj 10. Rezultati testa i značajnost za poređene parove skorova generalnog zdravlja sa upitnika SF 36

		t	df	p
Pair 1	GENERALHEALTH0 - GENERALHEALTH1	2.852	42	0.007**
Pair 2	GENERALHEALTH1 - GENERALHEALTH3	0.708	37	0.483
Pair 3	GENERALHEALTH3 - GENERALHEALTH6	0.117	32	0.907
Pair 4	GENERALHEALTH6 - GENERALHEALTH12	1.549	26	0.133

Tabela broj 11. Deskriptivni parametri za poređene skorove emocionalnog stanja sa upitnika SF 36

		prosek	n	SD	SE Prosek
Pair 1	EMOTIONWELL0	69.5814	43	21.82422	3.32816
	EMOTIONWELL1	82.2326	43	15.05045	2.29517
Pair 2	EMOTIONWELL1	81.0526	38	15.18703	2.46366
	EMOTIONWELL3	78.4211	38	19.13908	3.10477
Pair 3	EMOTIONWELL3	77.9394	33	19.82728	3.45149
	EMOTIONWELL6	83.0303	33	15.55732	2.70818
Pair 4	EMOTIONWELL6	82.9630	27	13.83830	2.66318
	EMOTIONWELL12	80.8889	27	17.34122	3.33732

Tabela broj 12. Rezultati testa i značajnost za poređene parove skorova bola sa upitnika SF 36

		t	df	p
Pair 1	EMOTIONWELL0 - EMOTIONWELL1	4.148	42	0.000**
Pair 2	EMOTIONWELL1 - EMOTIONWELL3	0.882	37	0.384
Pair 3	EMOTIONWELL3 - EMOTIONWELL6	1.845	32	0.114
Pair 4	EMOTIONWELL6 - EMOTIONWELL12	0.970	26	0.341

Tabela broj 13. Deskriptivni parametri za poredene skorove energije sa upitnika SF 36

		prosek	n	SD	SE Prosek
Pair 1	ENERGY0	64.6512	43	20.74205	3.16313
	ENERGY1	78.9535	43	16.74594	2.55373
Pair 2	ENERGY1	78.0263	38	17.38046	2.81948
	ENERGY3	76.4474	38	19.62169	3.18306
Pair 3	ENERGY3	76.5152	33	20.29027	3.53208
	ENERGY6	76.9697	33	16.53308	2.87804
Pair 4	ENERGY6	75.9259	27	14.87364	2.86243
	ENERGY12	77.7778	27	16.54442	3.18398

Tabela broj 14. Rezultati testa i značajnost za poredene parove skorova energije sa upitnika SF 36

		t	df	p
Pair 1	ENERGY0 - ENERGY1	4.429	42	0.000**
Pair 2	ENERGY1 - ENERGY3	0.522	37	0.605
Pair 3	ENERGY3 - ENERGY6	0.191	32	0.850
Pair 4	ENERGY6 - ENERGY12	0.943	26	0.354

Tabela broj 15. Deskriptivni parametri za poredene skorove psihičkog funkcionisanja sa upitnika SF 36

		prosek	n	SD	SE Prosek
Pair 1	PHYSICALFUNCT0	79.5349	43	17.48516	2.66646
	PHYSICALFUNCT1	84.1860	43	21.57297	3.28985

Pair 2	PHYSICALFUNCT1	82.7632	38	22.50217	3.65033
	PHYSICALFUNCT3	86.3158	38	15.14275	2.45648
Pair 3	PHYSICALFUNCT3	85.7576	33	15.96486	2.77913
	PHYSICALFUNCT6	82.1212	33	24.11011	4.19703
Pair 4	PHYSICALFUNCT6	81.4815	27	22.73657	4.37565
	PHYSICALFUNCT12	85.1852	27	17.01139	3.27384

Tabela broj 16. Rezultati testa i značajnost za poredene parove skorova psihičkog funkcionisanja sa upitnika SF 36

		t	df	p
Pair 1	PHYSICALFUNCT0-PHYSICALFUNCT1	1.996	42	0.048*
Pair 2	PHYSICALFUNCT1-PHYSICALFUNCT3	1.420	37	0.164
Pair 3	PHYSICALFUNCT3-PHYSICALFUNCT6	1.591	32	0.121
Pair 4	PHYSICALFUNCT6-PHYSICALFUNCT12	1.166	26	0.254

Tabela broj 17. Deskriptivni parametri za poredene skorove psihičkog zdravlja sa upitnika SF 36

		prosek	n	SD	SE
Pair 1	PHYSICALHEALTH0	45.3488	43	43.73071	6.66887
	PHYSICALHEALTH1	77.3430	43	34.42193	5.24929
Pair 2	PHYSICALHEALTH1	76.9934	38	35.05770	5.68711
	PHYSICALHEALTH3	78.2895	38	34.47044	5.59184
Pair 3	PHYSICALHEALTH3	78.0303	33	35.22116	6.13122
	PHYSICALHEALTH6	76.5152	33	34.76449	6.05172
Pair 4	PHYSICALHEALTH6	75.0000	27	33.96831	6.53720
	PHYSICALHEALTH12	75.0000	27	40.43038	7.78083

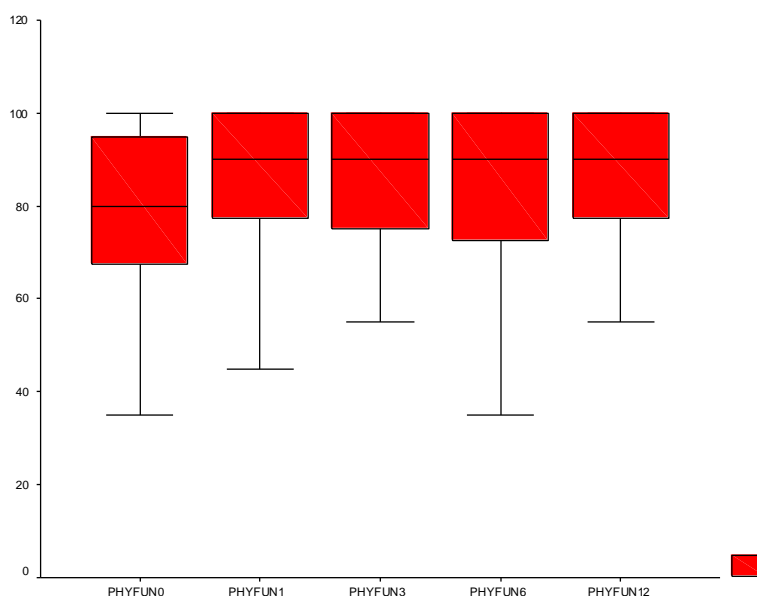
Tabela broj 18. Rezultati testa i značajnost za poređene parove skorova psihičkog zdravlja sa upitnika SF 36

		t	df	p
Pair 1	PHYSICALHEALTH0 - PHYSICALHEALTH1	4.869	42	0.000**
Pair 2	PHYSICALHEALTH1 - PHYSICALHEALTH3	0.368	37	0.715
Pair 3	PHYSICALHEALTH3 - PHYSICALHEALTH6	0.466	32	0.645
Pair 4	PHYSICALHEALTH6 - PHYSICALHEALTH12	0.000	26	1.000

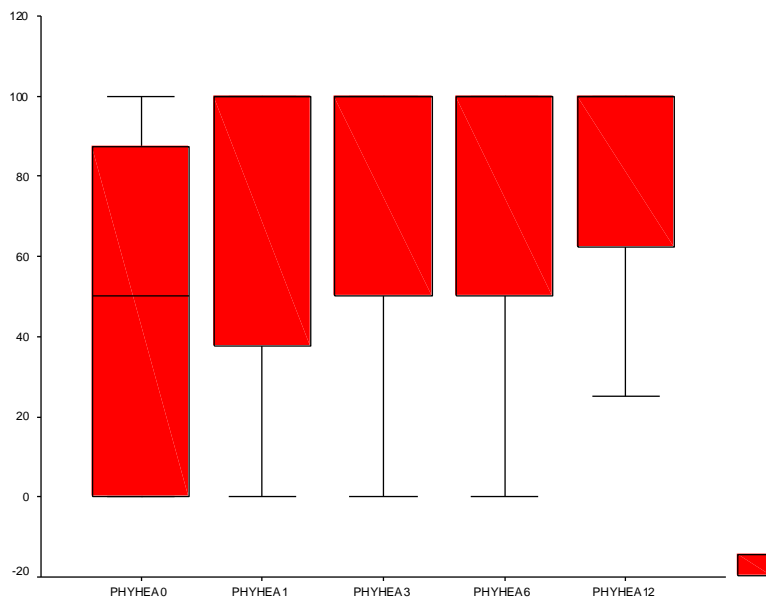
U svim slučajevima, odnosno kod svih analiziranih skorova (njih sedam koji čine SF 36 upitnik), uvek analiza promena vrednosti skora kod naših ispitanika unutar 5 posmatranih vremenskih tačaka dovodi do istog zaključka. Jedine statistički značajne promene su u vremenu koje protekne od preoperativnog momenta kontrole do mesec dana posle operacije. Sve kasnije promene su diskretne i nisu statistički značajne.

Najveća promena u našoj grupi ispitanika zabeležena je kod psihičkog zdravlja, bola i socijalnog funkcionisanja mada su u svih 7 skala zabeležene značajne promene uvek u smislu poboljšanja nalaza. Promene se mogu videti na donjim grafikonima.

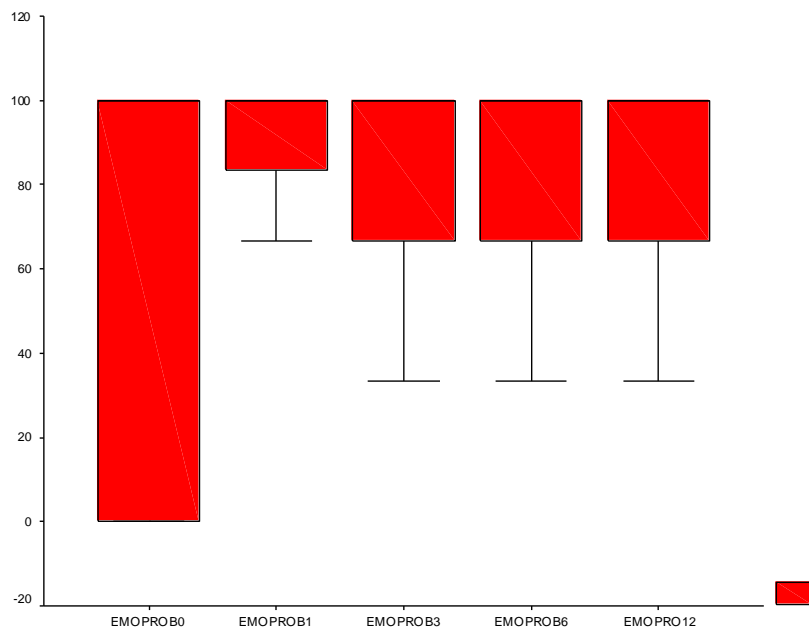
Grafikon broj 9. Promene skora psihičkog funkcionisanja kod naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



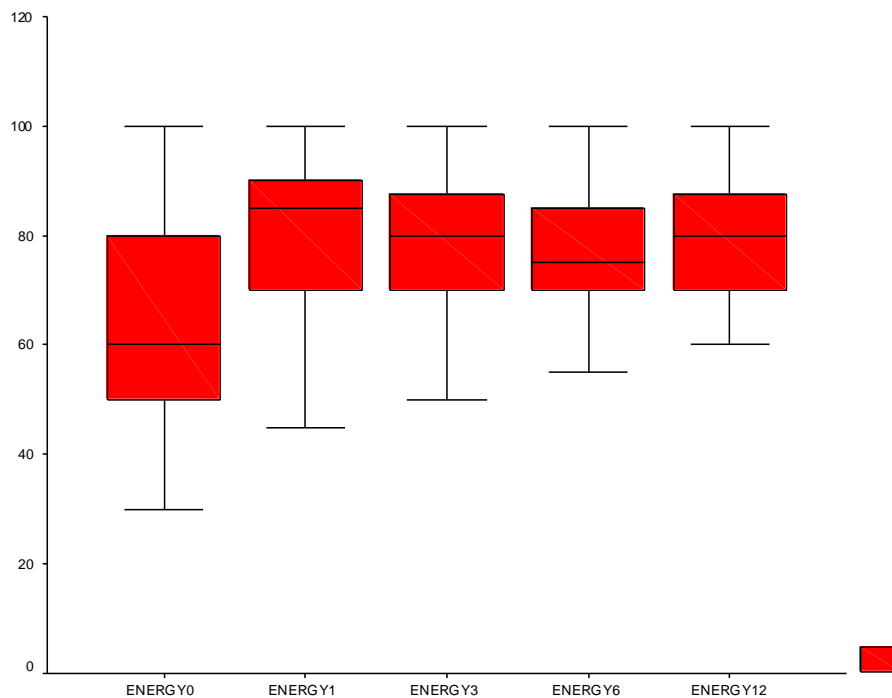
Grafikon broj 10. Promene skora psihičkog zdravlja kod naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



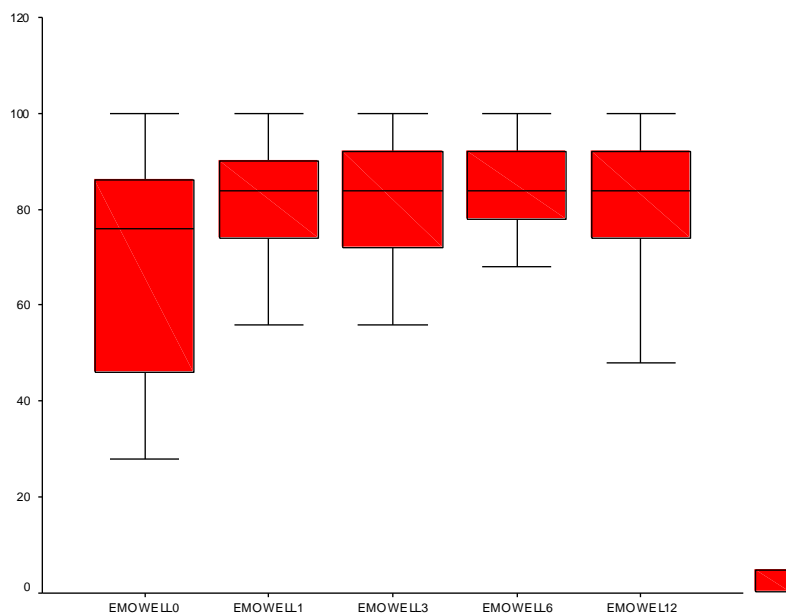
Grafikon broj 11. Promene skora emocionalnih problema kod naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



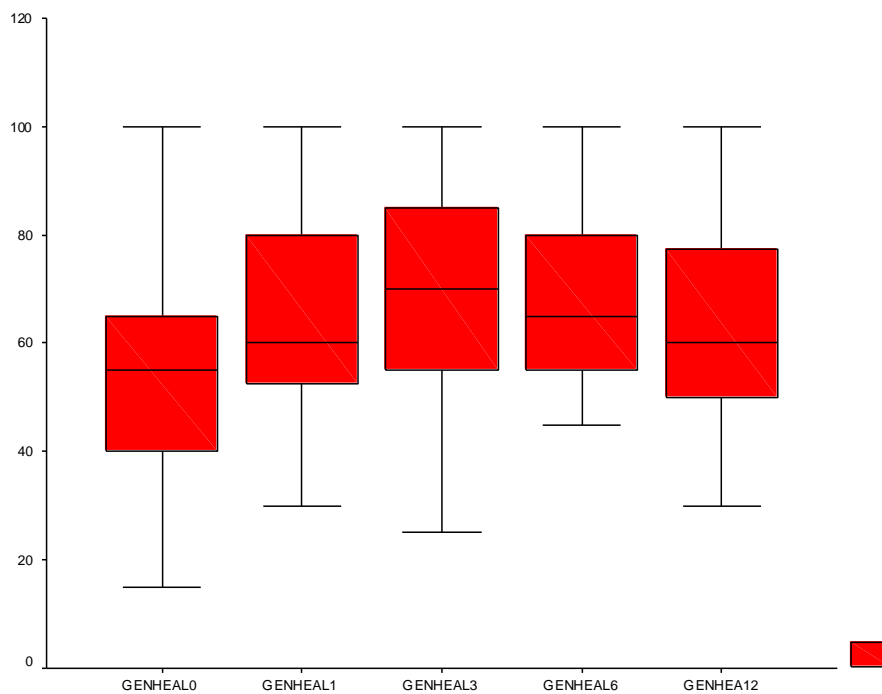
Grafikon broj 12. Promene skora energije kod naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



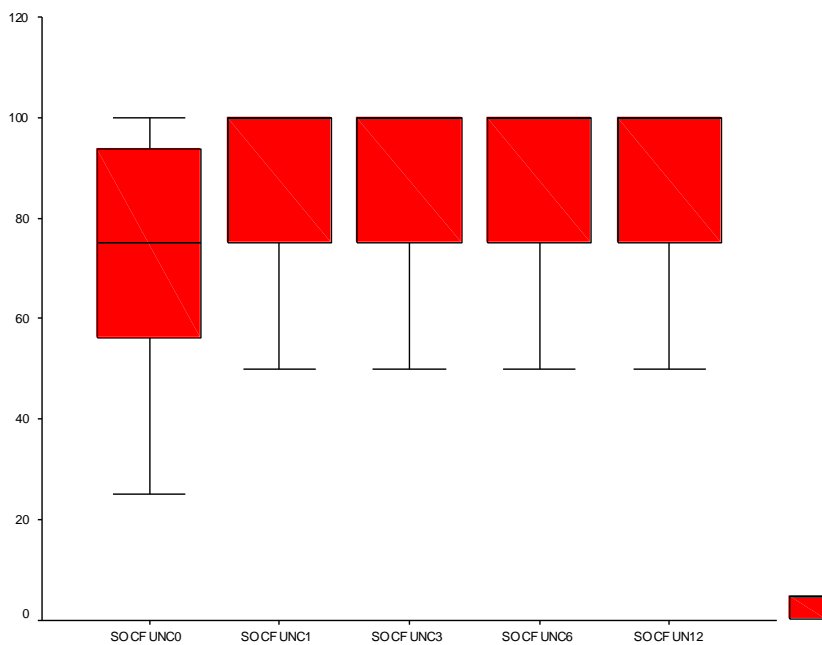
Grafikon broj 13. Promene skora emocionalnog stanja kod naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



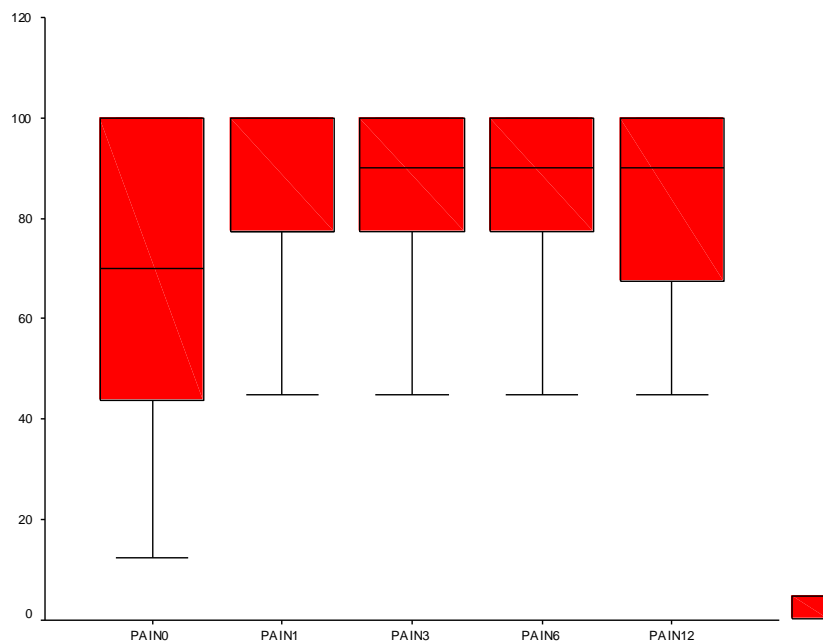
Grafikon broj 14. Promene skora opšteg zdravlja kod naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



Grafikon broj 15. Promene skora socijalnog funkcionisanja kod naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



Grafikon broj 16. Promene skora bola kod naših ispitanika (sa upitnika SF 36)



4.3. Vrednosti VAS skorova

Tabela broj 19. Skorovi upitnika VAS preoperativno i njihovi deskriptivni parametri

VAS0 preoperativni	n	Minimum	Maksimum	prosek	SD
zacepljenost	48	0	10	7.46	3.010
sekrecija	48	0	10	6.25	2.899
oštećenje mirisa	48	0	10	6.79	3.573
glavobolja	48	0	10	3.31	3.269
pritisak i bol u licu	48	0	10	2.67	3.124
kijanje	48	0	10	4.21	3.433

Tabela broj 20. Skorovi upitnika VAS mesec dana postoperativno i njihovi deskriptivni parametri

VAS1	n	Minimum	Maksimum	Prosek	SD
zacepljenost	43	0	8	.86	1.754
sekrecija	43	0	9	1.91	2.515
oštećenje mirisa	43	0	10	3.63	3.678
glavobolja	43	0	4	0.91	1.306
pritisak i bol u licu	43	0	10	0.81	1.763
kijanje	43	0	10	1.91	2.552

Tabela broj 21. Skorovi upitnika VAS 3 meseca postoperativno i njihovi deskriptivni parametri

VAS3	n	Minimum	Maksimum	Prosek	SD
zacepljenost	38	0	8	1.55	2.101
sekrecija	38	0	8	2.24	2.365
oštećenje mirisa	38	0	10	3.37	3.514
glavobolja	38	0	7	1.18	1.722
pritisak i bol u licu	38	0	5	0.74	1.349
kijanje	38	0	9	1.76	2.019

Tabela broj 22. Skorovi upitnika VAS 6 meseci postoperativno i njihovi deskriptivni parametri

VAS6	n	Minimum	Maksimum	Prosek	SD
zacepljenost	33	0	5	1.24	1.501
sekrecija	33	0	10	2.64	2.859
oštećenje mirisa	33	0	10	2.39	3.191
glavobolja	33	0	5	1.03	1.425

pritisak i bol u licu	33	0	6	0.79	1.495
kijanje	33	0	8	1.15	1.716

Tabela broj 23. Skorovi upitnika VAS 12 meseci postoperativno i njihovi deskriptivni parametri

	N	Minimum	Maksimum	Prosek	SD
VAS121	28	0	9	1.11	2.04
VAS122	28	0	10	2.32	2.80
VAS123	28	0	10	3.54	3.90
VAS124	28	0	10	1.46	2.28
VAS125	28	0	5	0.39	1.13
VAS126	28	0	10	2.43	3.03

Group Statistics

	pol	n	Prosek	SD	SE Prosek
VAS121	ženski	14	1.21	2.517	.673
	muški	14	1.00	1.519	.406
VAS122	ženski	14	2.43	2.821	.754
	muški	14	2.21	2.887	.772
VAS123	ženski	14	4.86	4.504	1.204
	muški	14	2.21	2.751	.735
VAS124	ženski	14	1.29	1.773	.474
	muški	14	1.64	2.763	.738
VAS125	ženski	14	0.36	0.929	.248
	muški	14	0.43	1.342	.359
VAS126	ženski	14	2.14	2.685	.718
	muški	14	2.71	3.429	.916

4.4.Vrednosti endoskopskih skorova

Tabela broj 24- vrednosti endoskopskih skorova polipa preoperativno u desnom nosnom kavumu

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %
nema	6	12.5	12.5	12.5
ogranicen	2	4.2	4.2	16.7
Valid pruza se u nazalnu supljinu	40	83.3	83.3	100.0
Total	48	100.0	100.0	

Tabela broj 25- vrednosti endoskopskih skorova polipa preoperativno u levom nosnom kavumu

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %
nema	4	8.3	8.3	8.3
ogranicen	4	8.3	8.3	16.7
Valid pruza se u nazalnu supljinu	40	83.3	83.3	100.0
Total	48	100.0	100.0	

Tabela broj 26- vrednosti endoskopskih skorova sekrecije preoperativno u desnom nosnom kavumu

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %
nema	5	10.4	10.4	10.4
Valid hijalina	37	77.1	77.1	87.5
mukopurulentna	6	12.5	12.5	100.0
Total	48	100.0	100.0	

Tabela broj 27- vrednosti endoskopskih skorova polipa preoperativno u levom nosnom kavumu

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %
nema	4	8.3	8.3	8.3
Valid srednje jacine	40	83.3	83.3	91.7
polipoidna degeneracija	4	8.3	8.3	100.0
Total	48	100.0	100.0	

Tabela broj 28- vrednosti endoskopskih skorova sekrecije preoperativno u desnom nosnom kavumu

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %
nema	5	10.4	10.4	10.4
Valid hijalina	37	77.1	77.1	87.5
mukopurulentna	6	12.5	12.5	100.0
Total	48	100.0	100.0	

Tabela broj 29- vrednosti endoskopskih skorova polipa preoperativno u levom nosnom kavumu

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %
nema	6	12.5	12.5	12.5
Valid hijalina	35	72.9	72.9	85.4
mukopurulentna	7	14.6	14.6	100.0
Total	48	100.0	100.0	

Tabela broj 30- vrednosti zbira endoskopskih skorova preoperativno

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %
0	3	6.3	6.3	6.3
5	2	4.2	4.2	10.4
6	3	6.3	6.3	16.7
7	5	10.4	10.4	27.1
Valid 8	26	54.2	54.2	81.3
9	1	2.1	2.1	83.3
10	7	14.6	14.6	97.9
12	1	2.1	2.1	100.0
Total	48	100.0	100.0	

Tabela broj 31 - vrednosti zbira endoskopskih skorova postoperativno

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %	
Valid	0	2	4.2	6.3	6.3
	1	1	2.1	3.1	9.4
	2	9	18.8	28.1	37.5
	3	1	2.1	3.1	40.6
	4	10	20.8	31.3	71.9
	5	2	4.2	6.3	78.1
	6	7	14.6	21.9	100.0
	Total	32	66.7	100.0	
Missing	System	16	33.3		
Total		48	100.0		

4.5.Rezultati upitnika SNOT 22

Tabela broj 32–zbirne vrednosti SNOT 22 skorova preoperativno

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %	
Valid	bez problema	29	60.4	67.4	67.4
	veoma blag problem	6	12.5	14.0	81.4
	blag problem	4	8.3	9.3	90.7
	srednje izrazen problem	2	4.2	4.7	95.3
	izrazen problem	1	2.1	2.3	97.7

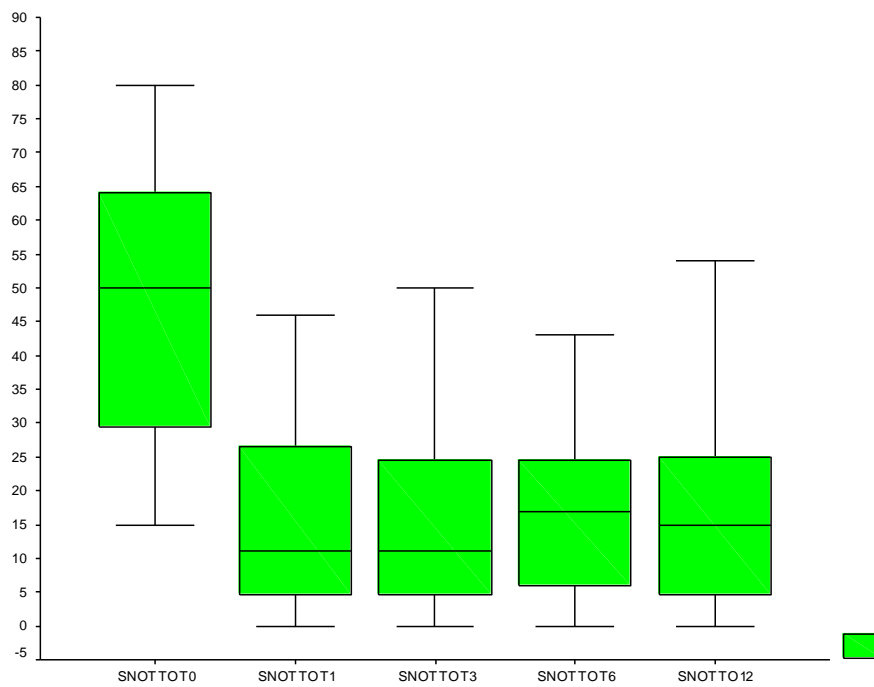
jako izrazen problem	1	2.1	2.3	100.0
Total	43	89.6	100.0	
Missing System	5	10.4		
Total	48	100.0		

Tabela broj 33–zbirne vrednosti SNOT 22 skorova postoperativno

	Frequency	%	Valid %	Cumulative %
Valid bez problema	1	2.1	2.1	2.1
veoma blag problem	3	6.3	6.3	8.3
blag problem	4	8.3	8.3	16.7
srednje izrazen problem	18	37.5	37.5	54.2
izrazen problem	7	14.6	14.6	68.8
jako izrazen problem	15	31.3	31.3	100.0
Total	48	100.0	100.0	
Valid bez problema	16	33.3	33.3	33.3
veoma blag problem	7	14.6	14.6	47.9
blag problem	8	16.7	16.7	64.6
srednje izrazen problem	9	18.8	18.8	83.3
izrazen problem	5	10.4	10.4	93.8
jako izrazen problem	3	6.3	6.3	100.0
Total	48	100.0	100.0	
Valid bez problema	9	18.8	18.8	18.8
veoma blag problem	4	8.3	8.3	27.1
blag problem	5	10.4	10.4	37.5

srednje izrazen problem	6	12.5	12.5	50.0
izrazen problem	12	25.0	25.0	75.0
jako izrazen problem	12	25.0	25.0	100.0
Total	48	100.0	100.0	

Grafikon broj 17. Promene skora SNOT kod naših ispitanika



4.6.Uticaj antibiotika na biofilm

Tabela broj 34 – Uticaj levofloksacina na formiranje biofilma u *in vitro* uslovima

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
levofloksakontrola	50	.0470	.4270	.123960	.0840614
levofloksacin0.50	50	.0440	.9500	.100120	.1698369
levofloksacin0.25	50	.0470	.9160	.185620	.2142749
levofloksacin0.12	50	.0480	.8370	.165120	.1705498
levofloksacin0.06	50	.0520	1.3000	.207040	.2564716
levofloksacin0.03	50	.0490	.8680	.178600	.1697458
Valid N (listwise)	50				

Tabela broj 35 – Uticaj amoksiklava na formiranje biofilma u *in vitro* uslovima

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
amoksiklavkontrola	50	.0470	.4270	.123960	.0840614
amoksiklav0.50	50	.0450	.1230	.061100	.0169648
amoksiklav0.25	50	.0450	.1200	.061220	.0162371
amoksiklav0.12	50	.0440	.1290	.061920	.0177578
amoksiklav0.06	50	.0450	.5950	.106300	.1121210
amoksiklav0.03	50	.0570	1.0890	.188940	.2251401
Valid N (listwise)	50				

Tabela broj 36 – Uticaj suprainhibitornih koncentracija levofloksacina na formirani 24-časovni biofilm u *in vitro* uslovima

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
levofloksakontrola24	50	.0470	.4270	.123960	.0840614
levofloksa244	50	.0540	1.1600	.119960	.1914915
levofloksa248	50	.0520	1.3330	.114360	.2067060
levofloksa2416	50	.0520	1.3590	.124480	.2325764
levofloksa2432	50	.0540	1.4060	.141740	.2606413
levofloksa2464	50	.0620	.2980	.099980	.0383525
Valid N (listwise)	50				

Tabela broj 37 – Uticaj suprainhibitornih koncentracija amoksiklava na formirani 24-časovni biofilm u *in vitro* uslovima

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
amoksiklavkontrola24	50	.0470	.4270	.123960	.0840614
amoksicilin244	50	.0550	.6400	.115480	.0833648
amoksicilin248	50	.0550	.2160	.089840	.0296533
amoksicilin2416	50	.0520	.2020	.084200	.0246974
amoksicilin2432	50	.0550	.1610	.079340	.0201804
amoksicilin2464	50	.0550	.1250	.074920	.0148816
Valid N (listwise)	50				

4.7. Uticaj različitih uslova inkubacije na formiranje biofilma

Tabela broj 38 – Uticaj različitih uslova inkubacije izolovanih sojeva na formiranje biofilma u *in vitro* uslovima

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
aerobni	50	.0470	.4270	.123960	.0840614
co2	50	.0510	.5320	.109140	.0762640
anaerobni	50	.0450	.6630	.111480	.1096267
Valid N (listwise)	50				

4.8. Analiza povezanosti kliničkih karakteristika i osobina biofilma u *in vitro* uslovima

Tabela broj 39 – Korelacija kliničkog nalaza i sposobnosti izolata da formira biofilm u *in vitro* uslovima

biofilm		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
zbir Lund Mackay	bez ili slabo formiranje	27	15.63	5.596	1.077
	umereno ili jako formiranje	19	14.53	5.863	1.345
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	t	df
zbir Lund Mackay	Equal variances assumed	.115	.736	.646	44
	Equal variances not assumed			.640	37.740

4.9. Ispitivanje osetljivosti bakterija na antibiotike

Osetljivost analiziranih sojeva na antimikrobne agense prikazana je u tabeli broj 40.

Tabela br 40- Osetljivost izolovanih sojeva na antibiotike (MR-multirezistentan soj, P-rezistentan na penicilin, E-rezistentan na eritromicin, K-rezistentan na klindamicin, Ø- nema rezistencije).

Redni broj	izolat	profil rezistencije
1.	<i>S. epidermidis</i>	MR
2.	<i>S. epidermidis</i>	MR
3.	<i>S. epidermidis</i>	MR
4.	<i>S. epidermidis</i>	MR
5.	<i>S. haemolyticus</i>	MR
6.	<i>S. haemolyticus</i>	MR
7.	<i>S. aureus</i>	P
8.	<i>S. aureus</i>	P

9.	<i>S. aureus</i>	P
10.	<i>S. aureus</i>	P
11.	<i>S. aureus</i>	P
12.	<i>S. aureus</i>	P
13.	<i>S. aureus</i>	P
14.	<i>S. aureus</i>	P
15.	<i>S. aureus</i>	P
16.	<i>S. epidermidis</i>	P
17.	<i>S. epidermidis</i>	P
18.	<i>S. epidermidis</i>	P
19.	<i>S. epidermidis</i>	P
20.	<i>S. epidermidis</i>	P
21.	<i>S. epidermidis</i>	P
22.	<i>S. epidermidis</i>	P
23.	<i>S. epidermidis</i>	P
24.	<i>S. epidermidis</i>	P
25.	<i>S. epidermidis</i>	P
26.	<i>S. haemolyticus</i>	P
27.	<i>S. haemolyticus</i>	P
28.	<i>S. haemolyticus</i>	P
29.	<i>S. haemolyticus</i>	P
30.	<i>S. lugdunensis</i>	P
31.	<i>S. warneri</i>	P
32.	<i>S. aureus</i>	P, E, K
33.	<i>S. aureus</i>	P,E,K
34.	<i>S. aureus</i>	P,E,K
35.	<i>S. epidermidis</i>	P,E,K
36.	<i>S. epidermidis</i>	P,E,K
37.	<i>S. epidermidis</i>	P,E,K
38.	<i>S. warneri</i>	P,E,K
39.	<i>S. aureus</i>	P,T
40.	<i>S. aureus</i>	P,T
41.	<i>S. pneumoniae</i>	∅
42.	<i>S. pneumoniae</i>	∅
43.	<i>S. pneumoniae</i>	∅
44.	<i>P. aeruginosa</i>	∅
45.	<i>P. aeruginosa</i>	∅
46.	<i>P. aeruginosa</i>	∅
47.	<i>P. aeruginosa</i>	∅
48.	<i>M. catarrhalis</i>	∅
49.	<i>M. catarrhalis</i>	∅
50.	<i>M. catarrhalis</i>	∅

Tabela broj 41: Osetljivost izolovanih sojeva i sposobnost formiranja biofilma na mikrotitracionim pločicama i silikonskim nazalnim splintovima *S.aureus* i *M.catarrhalis*

S- osetljiv; R-rezistentan ; MP-mikrotitraciona ploča; NS-nosni splint; P, penicilin; A, ampicilin; A+K, amoxicillin + clavulanic acid; C, cephalosporins; G, gentamicin; Cip, ciprofloxacin, E, erythromycin; Cl, clindamycin; T, tetracycline, FA, fusidic acid, M, mupirocin; Na, nalidixic acid; T+S, trimethoprim-sulfamethoxazole, CXM, cefuroxime; CTX, ceftriaxone; *-intermedijarno osetljiv

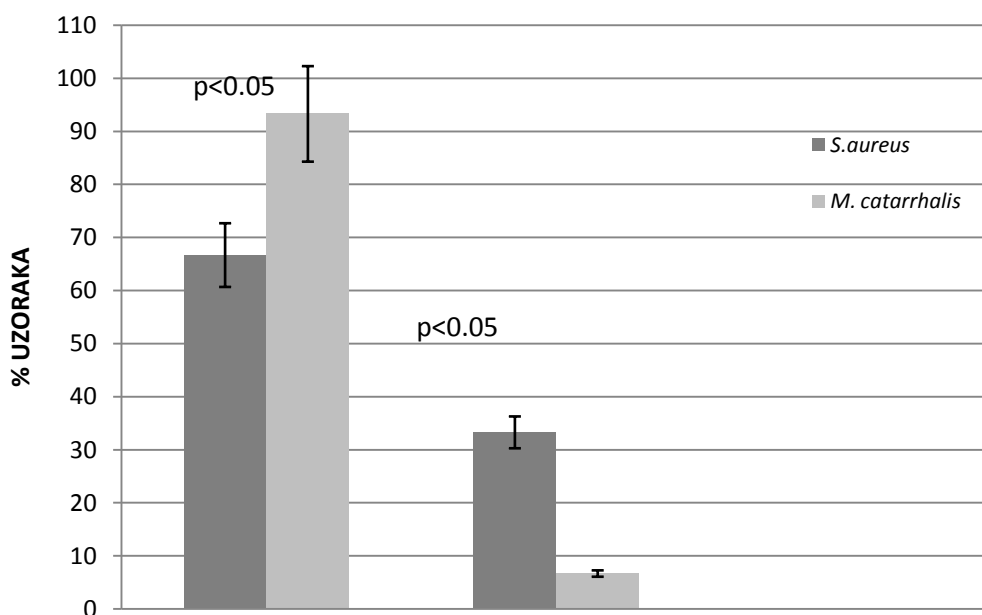
Kultura	S	R	MP	NS
<i>S. aureus</i> 1	A+K, C, G, Cip, E, Cl, T, Fa, M	P, A	++	+
<i>S. aureus</i> 2	Cip, T, Fa, M	P, A, A+K, C, G, E, Cl	+++	++
<i>S. aureus</i> 3	A+K, C, G, Cip, E, C, T, Fa, M	P, A	++	+
<i>S. aureus</i> 4	A+K, C, G, Cip, Fa, M	P, A, E, Cl, T	++	+
<i>S. aureus</i> 5	A+K, C, G, Cip, E, C, T, Fa, M	P, A	++	+
<i>S. aureus</i> 6	A+K, C, G, Cip, E, C, T, Fa, M	P, A	++	+
<i>S. aureus</i> 7	Cip, T, Fa, M	P, A, A+K, C, G, E, Cl	+++	++
<i>S. aureus</i> 8	A+K, C, G, Cip, Fa, M	P, A, E, Cl, T	+++	+
<i>S. aureus</i> 9	A+K, C, G, Cip, E, C, T, Fa, M	P, A	++	+
<i>S. aureus</i> 10	A+K, C, G, Cip, Fa, M	P, A, E, Cl, T	+++	+
<i>S. aureus</i> 11	A+K, C, Cip, Fa, M	P, A, G, E, Cl, T	+++	++
<i>S. aureus</i> 12	A+K, C, G, Cip, E, Cl, Fa, M	P, A, T	++	++
<i>S. aureus</i> 13	A+K, C, G, Cip, E, C, T, Fa, M	P, A	++	+
<i>S. aureus</i> 14	A+K, C, G, Cip, E, C, T, Fa, M	P, A	++	+
<i>S. aureus</i> 15	Cip, T, Fa, M	P, A, C, G, E, Cl	+++	++
<i>M. catarrhalis</i> 1	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	++	+
<i>M. catarrhalis</i> 2	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	++	+

<i>M. catarrhalis</i> 3	A+K, Na, E, CTX	P, A, CXM*, T+S	++	+
<i>M. catarrhalis</i> 4	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	++	+
<i>M. catarrhalis</i> 5	A+K, Na, E, T+S	P, A, CXM*	++	+
<i>M. catarrhalis</i> 6	A+K, Na, E, T+S	P, A, CXM*	++	+
<i>M. catarrhalis</i> 7	A+K, Na, E	P, A, CXM*, CTX*, T+S	+++	++
<i>M. catarrhalis</i> 8	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	++	+
<i>M. catarrhalis</i> 9	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	++	+
<i>M. catarrhalis</i> 10	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	++	+
<i>M. catarrhalis</i> 11	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	+	+
<i>M. catarrhalis</i> 12	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	+	+
<i>M. catarrhalis</i> 13	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	+	+
<i>M. catarrhalis</i> 14	A+K, Na, E, T+S, CTX	P, A, CXM*	++	+
<i>M. catarrhalis</i> 15	A+K, Na, E, CTX	P, A, CXM*, T+S	++	+

Četrdeset sedam procenata uzoraka *S.aureus*-a je multirezistentno, dok je 46,7% rezisitentno samo na penicilin i aminopeniciline. Među testiranim uzorcima *M.Catarrhalis*, svi uzorci(100%) su produkovali beta-laktamazu i bili su po EUCAST preporukama, rezistetni na pennicilin i aminopeniciline. 100% uzoraka je pokazalo intermedijalnu osetljivosst na cefuroksim i 20% na trimetoprim-sulfametoksazol. Niti jedan uzorak *M.Catarrhalis* nije bio multirezistentan.

4.10. Biofilm na silikonskim nazalnim splintovima

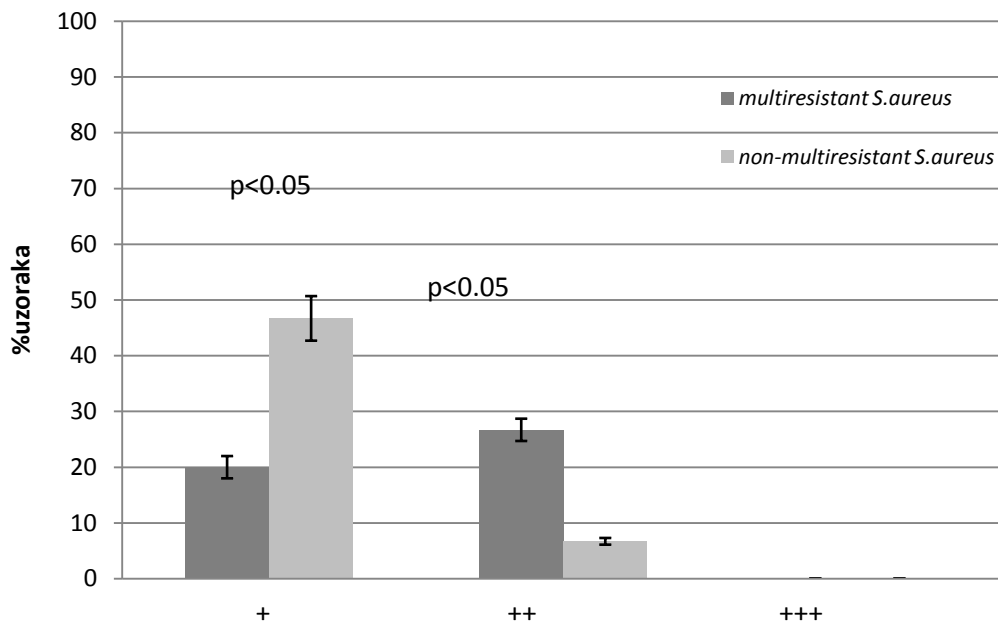
Preliminarni nalazi pokazali su da svi ispitivani uzorci *S.aureus*-a i *M.catarrhalis*-a imaju sposobnost formiranja biofilma (tabela broj 41): 20% uzoraka *M.catarrhalis*-a bilo je u grupi slabijih producera biofilma(kategorija 1,+), 60% *S.aureus*-a i 73,3% uzoraka *M.catarrhalis*-a spadaju u grupu umerenih producera biofilmova(kategorija 2,++) i 40% *S.aureus*-a i 6,7% uzoraka *M.catarrhalis*-a su bili u grupi izraženih producera biofilma(kategorija 3,+++). Uzorci *S.aureus*-a i *M.catarrhalis*-a formirali su značajno manju količinu biofilma na silikonskim splintovima u poređenju sa inicijalnim kapacitetom za formiranje biofilma($p<0.05$) (Tabela 41):66,7% uzoraka *S aureus*-a i 93,3% *M.catarrhalis*-a pripadalo je kategoriji slabih producer biofilma i 33,3% *S.aureus*-a i 6,7%uzoraka *M.catarrhalis*-a pripada kategoriji srednje izraženih producer biofilma.Niti jedan od ispitivanih uzoraka obe bakterijske vrste nije pripadalo grupi izraženih producer biofilma. Uzorci *S aureus*-a formirali su značajno veću količinu biofilma na silikonskim splintovima u poređenju sa *M.catarrhalis*-om ($p<0.05$) (Slika 18a)



Pedeset tri posto uzoraka *S aureus*-a i 73,3% *M.catarrhalis*-a koji su prethodno kategorizovani kao osrednji producer biofilma redukovali su kapacitet produkcije na silikonskim splintovima na nivo slabijeg producer biofilma. Četrdeset procenata uzoraka *S aureus*-a i 6,7% *M.catarrhalis*-a redukovali su kvanitet formiranja biofilma na silikonskim splintovimasa 3 kategorije na kategoriju 2.

Multirezistentni uzorci *S aureus*-a proizvodili su značajno veću količinu biofilma na silikonskim splintovima(kategorija 2, ++) u poređenju sa uzcorcima koji nisu multirezistetni

(kategorija 1,+) ($p < 0.05$; tabela 41, slika 18b). *S. aureus* u 6,7% rezistentan na penicilin, ampicilin i tetraciklin i 20,0% uzoraka *M. catarrhalis*-a pripadalo je istoj grupi rezistencije, produkovala je istu količinu biofilma na kontrolnoj ploči i na silikonskim splintovima.



U₁
m:

Grafik 18b- kategorija produkcije biofilma na splintovima la, u
odnosu na grupu sa uzorcima koji su pokazivali izrazenu sposobnost formiranja biofilma.

5. DISKUSIJA

Hronični rinosinuzitis je definisan kao sindrom koji se karakteriše perzistirajućom inflamacijom mukoze nosa i paranazalnih sinusa uz postojanje odgovarajuće simptomatologije.¹ Inflamacija sluznice je povezana sa faktorima sredine. U retkim slučajevima, kao u Wegenerovoj granulomatozi i sarkoidozi, hronična inflamacija postoji i bez stimulusa sredine.

Odavno je potvrđena uloga bakterija u razvoju akutnog rinosinuzitisa, i dugo se smatralo da nedovoljno lečeni akutni rinosinuzitis vodi u hronični oblik. Međutim novija istraživanja ne pokazuju tako jasnu povezanost uticaja bakterija na razvoj hroničnog rinosinuzitisa.¹

Standardne tehnike mikrobiološke analize pokazale su da u sinusima ima manje bakterija nego u nosu, dok su novije senzitivnije tehnike pokazale postojanje značajne bakterijske kolonizacije u sinusima, što može biti od značaja ne samo u slaganju patogena već i u promeni imune reakcije domaćina.

Poslednje decenije sve više je podataka koji podržavaju teoriju stafilokoknog superantigena, koja podrazumeva da je kolonizacija *S aureus*-a povezana sa sekrecijom superantigena - SAg koji pojačava lokalnu eozinofilnu imflamaciju i podržava formiranje polipa(542, 596). Ovu hipotezu podržava činjenica da su studije kulture pokazale jaku povezanost stafilokoka i polipa 661. Takođe, podrška ovoj teoriji je skoro identifikacija stafilokoka u intracelularnom prostoru kod oblika sa polipima , dok kod oblika bez polipa i kontrolnoj grupi nije identifikovan intracelularno. Dodatno u 50% pacijenata je identifikovan B i T ćelijski odgovor u tkivu na prisustvo SAg:-specifične IgE na SAg, Klonalnu proliferaciju T ćelija.

Pod normalnim mikrobiomom se podrazumevaju svi mikroorganizmi, koje se mogu ili ne mogu kultivisati, a prisutni su u određenoj ekološkoj niši kao što je gastrointestinalni trakt ili sluznica nosna i sinusa. Kod zdravih osoba razvoj mikrobioma je regulisan interakcijom sa domaćinom, ali ove interakcije i dalje predstavljaju veliku nepoznanicu. Postojanje komensalnih bakterija u ustima, nosno-sinusim šupljinama, želucu i crevima govori da one imaju i korisne funkcije po domaćina. Takođe postoje podaci da poremećaji u regulatornim procesima između komensalnih bakterija i domaćina mogu voditi kabolesti. Proučavajući bakterije u okviru hroničnog rinosinuzitisa dolazi se do podataka do povećanja bakterijskih vrsta, formiranja biofilma, identifikacije intracelularnih bakterija i promena na nivou samog mikrobioma. Primenom različitih tehnika identifikacije u nosnicama su kod zdravih osoba najčešće identifikovane *Staphilococcus aureus* i *Escherichia coli*, pored kojih su identifikovane i *S. Epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *S.*

Pneumoniae. U nosnim kavumima najčešće su identifikovane *P.acnes* i *S.epidermidis*, dok je *Staphylococcus aureus* identifikovan u oko 5%. Koristeći tehniku kvantitativne PCR koristeći pan-bakterijske prajmere *S.aureus* je detektovan u 67,9% zdravih ispitanika. U sklopu rinosinuzitisa intraoperativne kulture pokazale su pozitivnost u 72,6 do 80% sa predominacijom *S.aureus*-a i *Paeruginosa*-e. Primenjujući specijalne tehnike izolovano je nekoliko grupa anaerobnih bakterija: *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* i *Peptostreptococcus*. Visoka varijabilnost u nalazu anaerobnih vrsta samo ukazuje na ograničenja standardne tehnike kultivacije, a neki autori smatraju da se čak od 20 do 60% humannog mikrobioma, u zavisnosti od anatomske lokalizacije ne može kultivisati.¹⁶⁶

Feazel je koristio standardnu tehniku kultivacije bakterija i njegovi rezultati govore da je kod 75% pacijenata sa CRS izolovao koagulaza-negativni stafilokok, *S.aureus* u 50% i *P.acnes* 30%.¹⁶⁷

Sheikh i saradnici konstatuju da je najčešće izolovan *S.aureus* u 24% slučajeva pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom.¹⁶⁸

Hai sa saradnicima je u uzorcima pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom izolovao u 30,86% *S.aureus* dok je koagulaza negativan stafilokok izolovan u 43,21%.¹⁶⁹

Biofilm se sastoji od organizovanog sistema bakterija adheriranih na površinu sluznice ili na drugoj površini, utopljenih u ekstracelularnu polimernu suspstancu- glikokaliks sačinjenu pre svega od polisaharida, ali takođe sadrži i proteine i nukleniske kiseline. Bakterijski biofilmovi daju mogućnost izbegavanja odbrambenih snaga domaćina i povećavaju otpornost na antimikrobne agense. Biofilm funkcioniše i kao fizička barijera koja otežava ili onemogućava penetraciju antibiotika. Drugi mogući mehanizam otpornosti bakterija u biofilmu je stanje niske metaboličke aktivnosti. Sledeći mehanizam otpornosti bakterija je razvoj fenotipa sa otpornošću na osmotski stres, i regulacija transmembranskih kanala. Na kraju, quorum-sensing omogućava podelu genetske informacije u bakterijskoj zajednici preko intracelularnog signalnog mehanizma indukcijom transkripcije određenih gena.

Direktan uticaj bakterijskih biofilмова u patogenezi hroničnog rinosinuzitisa još uvek nije potvrđen, i promenjen mukozni imuni odgovor je potencijalno najznačajniji patogenetski faktor za razvoj CRS.

Koncept endoskopske hirurgije nosa i sinusa-FESS uveden je pre više od dve decenije, ali vremenom je unapređena hirurška tehnika, instrumentarijum ali i mogućnosti CT i MR dijagnostike. Dodatno, definiane su anatomske strukture koje predstavljaju orijentire tokom operacije. Ipak, FESS sam po sebi nije dovoljan za lečenje svih pacijenata. Ranija retrospektivna istraživanja pokazala su da biofilm postoji i nakon operacije, na sluznici

pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom, što omogućava patogenu da perzistira i pored učestale primene antibiotika.

Hai i saradnici pratili su postoperativne rezultate pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom i konstatovali su da postoji značajno poboljšanje kvaliteta života mereno VAS i SNOT-20 upitnikom, kao i popravljajanje endoskopskog skora.¹⁶⁹ Autori su takođe proučavali povezanost formiranja biofilma i poboljšanja simptoma pacijenata. Njihovi rezultati pokazuju da nema statistički značajne povezanosti između subjektivnog oporavka i sposobnosti bakterija da formiraju biofilm.

Singhal i saradnici koristili su FISH-CLSM metodologiju radi identifikacije biofilma na sluznici pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom.¹⁷⁰ Autori nisu našli razliku u postoperativnom toku među grupama sa i bez bakterijskog biofilma na sluznici. Prisustvo *Staphylococcus aureus*-a u biofilmu bilo je pokazatelj slabijeg oporavka simptoma pacijenta. Takođe pokazatelji kvaliteta života bili su lošiji kod grupe pacijenata sa *Staphylococcus aureus*-om u biofilmu.

U naše istraživanje uključeni su isključivo pacijenti sa nosno-sinusnom polipozom, i skoro duplo veći uzorak u odnosu na istraživanje Hai i saradnika. Na osnovu sposobnosti formiranja biofilma u in vitro uslovima podelili smo uzorke u dve grupe: bez formiranja/slabo formirajući biofilm i umereno/intenzivno formirajući biofilm. Naši rezultati su u saglasnosti sa njihovim istraživanjem, da i pored značajnog poboljšanja na skorovima koji se odnose na kvalitet života nema statistički značajne razlike među ispitivanim grupama.

Operacije nosa i sinusa neretko zahtevaju primenu silikonskih slintova. Najčešće se koriste u okviru septoplastike za prevenciju priraslica sluznice i lateralnog zida nosa i da imobilizuju septum u željenoj poziciji. Iako su od velikog značaja u postoperativnom periodu, ipak predstavljaju strano telo od sintetičkog materijala koje se nalazi u telu. Kao i drugi medicinski materijali i silikonski splintovi mogu biti kolonizovani sa bakterijama i biofilm se može formirati posle kratkog vremenskog perioda. Acar i saradnici je prvi uradio studiju na formiranju biofilma na silikonskim splintovima i pokazao da se na 12%, 56% i 100% splintova formirao biofilm na njihovoj površini tokom 48, 72 i 96 časova nakon plasiranja u nos. U njihovoj studiji prikazivanje biofilma na splintovima je vršeno elektronskom mikroskopijom, široko korišćenom semikvantitativnom tehnikom za *in vivo* određivanje produkcije biofilma. Ipak, mi smo koristili modifikovanu *in vitro* mikrotitracionu tehniku na silikonskim splintovima i ne samo potvrdili prisustvo biofilma na splintovima, već i odredili njegov kvantitet. U studiji svi uzorci su sadžali *S. aureus* i *M. catarrhalis* sa kapacitetom da formiraju biofilma sa različitim kapacitetom (tabela 1.)

Postoperativno se imobilizacija septuma može izvršiti različitim materijalima: vazelinskom gazom, bizmut-jodoform-parafinskom pastom, Merocel tamponima, silikonskim splintovima itd. Dag i saradnici su ispitivali kapacitet formiranja biofilma na dva različita

materijala (Merocel i silikonski splintovi) i pokazali su da se na Merocelu formira značajno više biofilma nego na silikonskim splintovima, uglavnom zbog različite teksture i karakteristika površine ovih materijala. Slične nalaze prikazala je i naša studija: uzorci *S.aureus*-a i *M.catarrhalis*-a su pokazali slabiji kapacitet produkcije biofilma na silikonskim splintovima u odnosu na polistiren plastiku. Ipak, ovo je od velikog značaja za odabir najprikladnijeg materijala za primenu, ili pak u analiziranju novog materijala na pogodnost za formiranje biofilma *in vivo* i/ili *in vitro* studijama pre korišćenja u operacionim salama. Ipak, ovi rezultati pokazuju veći značaj primene kvantitativne analize *in vitro*, u odnosu na klasičnu kvantitativnu metodu, za analizu biofilma na biomaterijalima u cilju dobijanja realnih i tačnih rezultata.

Biofilm je kompleksna mikrobiološka zajednica sa brojnom vrstama bakterija koje su u matriksu od ekstracelularnog polisaharida. Pored karakteristika površine na koju se bakterije vezuju, kao i uslova sredine, produkcija biofilma zavisi i od karakteristika bakterije koja produkuje biofilm. *S.aureus* i *M.catarrhalis* pripadaju normalnoj bakterijskoj flori nosa, kako odraslih, tako i dece, sa značajnom razlikom u uzrasnim grupama: *S.aureus* zajedno sa koagulaza negativnim stafilokokom predstavlja dominantnu floru kod odraslih, dok su *M. catarrhalis* sa *S.pneumoniae*-e i *H.influezae* predstavljaju najčešću floru u dečjem uzrastu. Kao uobičajena nosna flora, ovi patogeni mogu veoma lako da kontaminiraju površinu intranazalnih splintova i da formiraju biofilma. U skladu sa tim u ovoj studiji istraživana je kapacitet formacije biofilma sa *S.aureus*-om i *M.catarrhalis*-om. Naši rezultati pokazuju značajno veći kapacitet *S.aureus*-a za produkciju biofilma u odnosu na uzorke *M.catarrhalis*-a. Drago i saradnici su objavili slične rezultate uzoraka *S.aureus*-a i *M.catarrhalis*-a iz gornjeg respiratornog trakta, ipak po našem saznanju ovo je prva studija koja analizira respiratorne patogene na silikonskim intranazalnim splintovima. Naše istraživanje potvrđuje da različiti uzorci iste bakterijske vrste imaju različiti potencijal da formiraju biofilm, što ukazuje da je produkcija biofilma jako povezana sa fenotipskim i genotipskim karakteristikama uzorka.

Najčešće karakteristike *S.aureus*-a i *M.catarrhalis*-a su razvoj resistentnih i multirezistentnih sojeva u proteklih nekoliko decenija. Obe bakterije pokazuju sposobnost za produkciju betalaktamaza ili druge stečene mehanizme rezistencije. U ovoj studiji multirezistentni *S.aureus*- i *M.catarrhalis* formirali su veću količinu biofilma u odnosu na ostale izolate. Ovo može da ukazuje da sposobnost formiranja bolje strukture biofilma možda bude značajan faktor virulencije kod rezistentnih bakterijskih sojeva, što bi trebalo da bude i tema budućih istraživanja.

Naši rezultati pokazuju da su izolovani sojevi, odnosno najveći broj je osetljiv na najčešće primenjivane antibiotike u otorinolaringološkoj praksi.

Korišćenje antibiotika u okviru otorinolaringološke hirurgije je uobičajena praksa. Istraživanje među članovima Rinološkog društva Sjedinjenih država pokazalo je da 66% ORL doktora koristi antibiotike rutinski u postoperativnom periodu nakon septoplastike, a najveći razlog profilaktičke primene je prevencija postoperativnih infekcija. Amoksisicilin –

klavulonska kiselina je najčešće ordiniran antibiotik u okviru septoplastike. Iako su svi uzorci testirani u našoj studiji bili senzitivni na ovaj lek, opisani metod određuje osetljivost planktonskog ali ne i sesilnog(u biofilmu) oblika bakterije. Bakterije iz biofilma pokazuju smanjenu osetljivost i/ ili rezistenciju na antibiotike. Penetracija antibiotika u biofilm je značajno redukovana , i bakterije u biofilmu su izložene gradualno smanjenoj dozi leka. Ovakva gradualna ekspozicija može uzrokovati metaboličke ili transkripcione promene kod bakterija i povećati rezistenciju na antibiotsku terapiju. Dodatno , u svim ranijim istraživanjima profilaktička primena amoksicilin-klavulonska kiselina ne prevenira formiranje biofilma na silikonskim splintovima. Drugi mogući tretman biofilma su niske doze makrolida. Niske doze klaritromicina pokazale su da utiču na biofilm.

U našem istraživanju pokazalo se da primena najniže doze antibiotika u koncentraciji 0,03µg/ml i levofloksacina i amoksilava stimuliše produkciju biofilma, dok je više koncentracije inhibiraju. Ovakve rezultate možemo objasniti činjenicom da najniža koncentracija antibiotika nije dovoljna da inhibira rast i razmnožavanje bakterija ali ipak predstavlja stimulaciju bakterije za produkciju biofilma, kao nepovoljni faktor sredine. Tek više koncentracije antibiotika suprimiraju odnosno održavaju produkciju na bazičnom nivou.

Uticaj antibiotika na dvadeset četvoročasovni biofilm pokazao je da tek šesnaest puta veća koncentracija levofloksacina (64 µg/ml) i osam puta veća koncentracija amoksicilin-klavulonske kiseline(16µg/ml) od MIC-a je neophodna za eradikaciju bakterija u biofilmu. Ovakvi nalazi jošjednom potvrđuju značaj biofilma u rezistenciji bakterija na dejstvo antibiotika.

Naši rezultati pokazali su da nema uticaja atmosfere inkubiranja na formiranje biofilma. Ovakav nalaz može se objasniti činjenicom da su izolati fakultatativno anaerobne bakterije, koje se mogu lako prilagoditi različitim uslovima.

Takođe naši rezultati ukazuju da je flutikazon bolje uticao na formiranje biofilma u odnosu na mometazon. Objašnjeneje ovakvog nalaza možda bi se moglo potražiti u karakteristikama samog molekula.

Primena izotonog rastvora pokazala je manji potencijal formiranja biofilma u odnosu na hipertoni slani rastvor. Pretpostavljamo da je hipertona sredina manje povoljna za razvoj bakterija, što bi bila stimulacija za formiranje biofilma.

Studija je dala prospektivnu analizu uticaja mikrobioloških faktora povezanih sa biofilmom na postoperativnolečenje konsektivne kohorte pacijenata i pokaza lje da je intenzivnije formiranje biofilma u *in vitro* uslovima povezano sa lošijim objektivnim nalazom i slabijim postoperativnim rezultatom. Iako izgleda da je patofiziologija hroničnog rinosinuzitisa multifaktorijalna prisustvo biofilma utiče na održavanje inflamatorne reakcije kod pacijenta sa slabom kontrolom simptoma bolesti. Ova podgrupa pacijenata permanentno ima nosno-sinusnu inflamaciju i ponavljane akutne egzacerbacije bolesti i uprkos dugotrajnojantibiotskoj terapiji koja je određena na osnovu mikrobioloških analiza, kao i posle adekvatno učinjenog operativnog lečenja. Sa otkrivanjem biofilma kod pacijenata sa

hroničnim rinosinuzitisom smatralo se da bi upravo on mogao da bude odgovoran za upornu i dugotrajnu bolest. Do sada, studije koje ovo potvrđuju uglavnom su bile *in vitro* ili retrospektivne.

Ispitanici sa uzorcima koji su pokazivali intenzivnije formirnaje biofilma, ima li su rasprostranjeniju bolest i uprkos maksimalnom konzervativnom lečenju. Ovo podržava hipotezu da biofilmima značajnu ulogu u razvoju upornog oblika hroničnog sinuzitisa. Više od polovine pacijenata bilo je na dodatnim kontrolama koje su nastale zbog potrebe za dodatnom konsultacijom ili zbog razvoja dodatne inflamacije u sinusima i nosu. Iako nisu ni pacijenti niti hirurzi znali o sposobnosti uzoraka da formiraju biofilm, 75% bilo je iz grupe sa izrežanom sposobnošću formiranja biofilma.

Nekoliko malih studija analiziralo je biofilm kod pacijenta sa hroničnim rinosinuzitisom. Cryer i saradnici analizirali su 16 pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom koji su adekvatno lečeni konzervativno i hirurški. Koristeći elektronsku mikroskopiju utvrđeno je postojanje biofilma u 25% uzoraka. Ova studija je sprovedena bez kontrolne grupe. Sanclament i saradnici su ustanovili postojanje biofilma u 80% pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom, dok u kontrolnoj grupi nije utvrđeno postojanje biofilma. Nažalost sve studije koje su proučavale biofilm kod pacijenta sa HRS imale su mali broj uzoraka. Psaltis i saradnici su konstatovali da je kod pacijenata čiji su uzorci posedovali biofilm lošiji postoperativni efekat nakon FESS-a nego u grupi ispitanika čiji su uzorci bez biofilma. Mada, njegovo istraživanje je vršeno konofokalnom skenirajućom laserskom mikroskopijom, a grupa ispitanika uključivala je pacijente sa HRS i alergijskim fungalnim sinuzitisom.

Naše istraživanje pokazalo je da simptom skorovi pacijenata obe grupe pokazivali su početno poboljšanje, a potom je prikazano blago povećanje vrednosti skorova. Pacijenti čiji uzorci nisu pokazivali izraženu sposobnost formiranja biofilma pokazivali su kontinuirani oporavak i stabilizaciju simptoma. Takođe postoji značajna korelacija sposobnosti formiranja biofilma i endoskopskog nalaza u postoperativnom periodu.

Ostaci biofilma na sluznici nosa i sinusa mogu se rasejati na regenerisanom epitelu, i poslužiti kao matrica za dalji razvoj biofilma. Kada se formira biofilm, bakterije u njemu postaju izuzetno otporne na imuni odgovor domaćina, a takođe i na dejstvo antibiotika i drugih agenasa. Biofilma takođe može da bude i stimulus za razvoj inflamatornog procesa periodičnim otpuštanjem planktonskih oblika bakterija, uzrokujući akutizaciju hroničnog procesa.

Svakako, dalja istraživanja su neophodna za precizno određivanje kako se ove dve grupe razlikuju i kako bakterijski biofilm korelira sa ishodom lečenja.

U našoj studiji *S.aureus* je najčešći izolovana bakterija, a potom su *M.catarrhalis*, *S.pneumoniae*, *H.influencae*. Ovakav nalaz je u skladu sa ranijim istraživanjima koja su analizirala mikrobiološke karakteristike u predelu srednjeg nosnog hodnika. Yildirim i saradnici nalaze da je u 48% slučajeva prisutan koagulaza negativan stafilokok, potom pneumokok u 16,7%, i *S.aureus* u 10,4% slučajeva. Doyle i Woodham su takođe našli je

koagulaza negativni stafilokok prisutan u 71%, *S.aureus* u 19%. Phan i saradnici su preoperativno u 43,2% izolovali koagulaza negativan stafilokok i u 30,86% je izolovan *S.aureus*.

Pod velikim pitanjem je koji od ovih patogena je odgovoran za razvoj hroničnog rinosinuzitisa. U istraživanju Phan-a i saradnika u poređenju nalaza preoperativno i postoperativno nije uočena statistička razlika u bakterijskoj flori. U maloj retrospektivnoj studiji Bendouah i saradnika iz 31 izolata kod 19 pacijenta sa hroničnim rinosinuzitisom kojima je učinjena endoskopska hirurgija sinusa u 22 izolata je prikazano formiranje biofilma. Izolati biofilмова *P.aeruginosa*-e i *S.aureus*-a su korelirali sa slabijim postoperativnim efektima endoskopske operacije sinusa, dok kod pacijenata čiji izolati nisu pokazivali sposobnost formiranja biofilma ova korelacija nije ustanovljena. Psaltis i saradnici su retrospektivnom studijom obuhvatili 40 pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom. Prisustvo biofilma ustanovljeno je u 50% slučajeva. Grupa sa ustanovljenim biofilmom imala je statistički značajniju lošiju kontrolu simptoma bolesti nakon operacije. Prospektivna studija Phan-a pratila je efekte endoskopske hirurgijena biofilm kod 24 konsektivna pacijenta sa hroničnim rinosinuzitisom tokom tri meseca. Efekat hirurgije uočen je pre svega na *S.aureus*-u: broj koagulaza negativnog stafilokoka je konstantan u studiji pre i postoperativno, dok se smanjo broj *S.aureus*-a i oblika koji formiraju i oblika koji ne formiraju biofilm. Ipak u navedenoj studiji nije bilo korelacije sa redukcijom biofilm formirajućeg *S.aureus*-a i redukcije skora simptoma bolesti. Druge bakterije koje su formirale biofilm su bile u izetno malom broju tako da istraživači nisu mogli da izvuku zaključak. U navedenoj studiji nije bilo statistički značajne razlike između subjektivnih i objektivnih parametara u grupi pacijenata čiji uzorci suformirali biofilm, u odnosu na grupu pacijenata čiji uzorci nisu formirali biofilm. Ovakav nalaz je moguće objasniti sa kratkim periodom praćenja- 12 nedelja, što nije dovoljno za potpuni oporavak mukocilijarnog transporta, ali i relativno malom grupom ispitanika.

Hronični rinosinuzitis je tipično polimikrobna bolest, što je pokazano primenom standardnih mikrobioloških tehnika. Dodatno, biofilmovi kod pacijenta sa hroničnim rinosinuzitisom su polimikrobni, i izgleda da je broj bakterijskih vrsta u biofilmu prediktor bolesti. Ovakav nalaz biofilma sa više bakterijskih vrsta u biofilmovima na nosno-sinusnoj sluznici je povezan sa izraženijim simptomima preoperativno, kao i sa lošijim endoskopskim radiološkim nalazom u poređenju sa pacijentima kod kojih je uočena samo jedna bakterijska kultura u biofilmu. Ista grupa pacijenata imala je lošiji postoperativni nalaz na sluznici i imali su češće postoperativne kontrole. U istraživanjima Singhala i saradnika nalaz *S.aureus*-a u biofilmu, samostalno ili u kombinaciji sa drugim mikroorganizmima identifikovan je u 70% slučajeva u grupi od 30 pacijenata, i ova grupa slabije je popravila postoperativne skorove simptoma, kao i objektivne endoskopske parametre. *S.aureus* je u nekoliko studija bio najčešće izolovana bakterija u grupi pacijenata sa refraktarnom bolešću i načešći je mikroorganizam koji formira biofilm u uzorcima sluznice uzetih intraoperativno. Singhal je u prospektivnoj studiji pokazao da postojanje biofilma sa *S.aureus*-om na sluznici nosa i sinusa korelira sa lošijim VAS skorom simptoma, lošijim endoskopskim nalazom,

lošijim kvalitetom života nakon endoskopske hirurgije sinusa u poređenju sa pacijentima sa čiji uzorci nisu pokazali prisustvo *S.aureusa*. Takođe u ovoj studiji pacijenti iz grupe sa biofilmom *S.aureus*-a imali su značajno više postoperativnih kontrola, što pokazuje da su postojale infekcije i da je bolest perzistirala u toj grupi. Pacijenti iz ove grupe imali su više ranije učinjenih operacija sinusa, što ponovo povezuje perzistentnu i upornu bolest sa *S.aureusa*-om. Ovi rezultati su mnogo uočljiviji ukoliko je biofilm monobakterijski. Takođe postoji mišljenje da je biofilm izvor stafilokoknog superantigena, koji pokreće Th2 imuni odgovor i dovodi do povećanja interleukina 5 i broja eozinofila u tkivu. Autori navode da je nalaz *H.infulenzae* u biofilmu povezan sa blagim oblikom bolesti i brzim oporavkom simptoma i znakova nakon hirurškog lečenja. U monomikrobnom biofilmu sa *H.infulenzae* pacijenti su imali najniže vrednosti simptom skorova, i najniže vrednosti endoskopskih skorova. Tokom 6 do 8 nedelja postoperativno ovi pacijenti su imali rapidni oporavak simptoma i znakova bolesti, uz kontinuirano popravljanje kvaliteta života. Ovakav oporavak nije uočen kod pacijenata u čijim uzorcima je pored *H.infulenzae* izolovan i *S.aureus*, što ukazuje da je simptomatologija pojačana prisustvom biofilma sa *S.aureus*-om. Kada je *H.infulenzae* kombinovan u biofilmu sa *P.aeruginosa*-om ili fungalnim biofilmom, bez prisustva *S.aureus*-a, bolest je ponovo bila slabije izražene simptomatologije, odražavajući blag patogeni efekat ovih bakterijskih vrsta. Ovakvi nalazi potvrđuju teoriju da *S.aureus* ima dominantnu ulogu u biofilmovima kod pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom

6. ZAKLJUČCI

Najčešće izolovana bakterija je *S.aureus*.

Preoperativne kliničke karakteristike koristeći Lund-Kennedy i Lund Mckey skalu ne razlikuju se između grupa pacijenata čiji uzorci formiraju biofilm različitih karakteristika u *in vitro* uslovima.

Proučavajući povezanost karakteristika biofilma u *in vitro* uslovima i postoperativnog kliničkog toka došlo se do zaključka da niži nivo životne energije, slabije opšte zdravstveno stanje i lošije socijalno funkcionisanje imaju pacijenti čiji uzorci umereno ili intenzivno formiraju biofilm u *in vitro* uslovima. Koristeći specifične upitnike za rinosinuzitis-SNOT22 i VAS između ispitivanih grupa nije bilo razlike.

Analizirajući uticaj različitih uslova inkubacije nema statistički značajne razlike. Takođe nisu uočene razlike u formiranju biofilmova između različitih bakterijskih sojeva. Kvantifikacioni rezultati formiranja biofilma na nazalnim silikonskim splintovima zavise od vrste i rezistentnosti.

7. LITERATURA

1. Fokkens W.J. et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinology*.2012; 50 (23):1-299.
2. DeMarcantonio MA, Han JK. Nasal polyps:pathogenesis and treatment implications.*Otolaryngologic clinics of North America*.2011 Jun;44(3):685-95, ix.
3. Payne SC, Borish L, Steinke JW. Genetics and phenotyping in chronic sinusitis. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011 Jun 23
4. Payne SC, Early SB, Huyett P, Han JK, Borish L, Steinke JW. Evidence for distinct histological profile of nasal polyps: with and without eosinophilia. *The Laryngoscope*. 2011;121(10):2262-7.
5. Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, et al. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. *American journal of rhinology*. 2008 Nov-Dec;22(6):549-59.
6. Chen Y, Dales R, Lin M. The epidemiology of chronic Rhinosinusitis in Canadians. *The Laryngoscope*. 2003 Jul;113(7):1199-205.
7. Gordts F, Clement PA, Buisseret T.Prevalence of sinusitis signs in a non-ENT population. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 1996 Nov-Dec;58(6):315-9.
8. Ahsan SF, Jumans S, Nunez DA. Chronic rhinosinusitis: a comparative study of disease occurrence in North of Scotland and Southern Caribbean otolaryngology outpatient clinics over a two month period. *Scott Med J*. 2004 Nov;49(4):130-3.
9. Hastan D, Fokkens WJ, Bachert C, Newson RB, Bislimovska J, Bockelbrink A, et al. Chronic rhinosinusitis in Europe—an underestimated disease. A GA(2)LEN study. *Allergy*. 2011 Sep;66(9):1216-23.
10. Pilan RR, Pinna F, Bezerra TFP, Renata Lopes Mori RL, Voegels R. Prevalence of Chronic Rhinosinusitis in Sao Paulo. *Rhinology*. 2012;50.
11. Collins JG, Blackwell DL, Tonthat L, Shashy RG, Moore EJ, Weaver A, et al. Prevalence of selected chronic conditions: United States, 1990-1992 Summary health statistics for the U.S. population: National Health Interview Survey, 1997 Prevalence of the chronic sinusitis diagnosis.
12. Shashy RG, Moore EJ, Weaver A. Prevalence of the chronic sinusitis diagnosis in Olmsted County, Minnesota. *Archives of otolaryngology--head & neck*.
13. Lemon KP, Klepac-Ceraj V, Schiffer HK, Brodie EL, Lynch SV, Kolter R. Comparative analyses of the bacterial microbiota of the human nostril and oropharynx. *MBio*. 2010;1(3).
14. Frank DN, Feazel LM, Bessesen MT, Price CS, Janoff EN, Pace NR. The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus* carriage. *PLoS One*. 2010;5(5):e10598
15. Abou-Hamad W, Matar N, Elias M, Nasr M, Sarkis-Karam D, Hokayem N, et al. Bacterial flora in normal adult maxillary sinuses. *American journal of rhinology & allergy*. 2009 May-Jun;23(3):261-3.

16. . Hilty M, Burke C, Pedro H, Cardenas P, Bush A, Bossley C, et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One*. 2010;5(1):e8578
17. . Herbst T, Sichelstiel A, Schar C, Yadava K, Burki K, Cahenzli J, et al. Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2011 Jul 15;184(2):198-205.
18. Cernadas M. It Takes a Microbiome: Commensals, Immune Regulation, and Allergy. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2011;184:149- 58.
19. . Doyle PW, Woodham JD. Evaluation of the microbiology of chronic ethmoid sinusitis. *J Clin Microbiol*. 1991 Nov;29(11):2396-400.
20. Hoyt WH. Bacterial patterns found in surgery patients with chronic sinusitis. *J Am Osteopath Assoc*. 1992;92(205).
21. Hsu J, Lanza DC, Kennedy DW. Antimicrobial resistance in bacterial chronic sinusitis. *American journal of rhinology*. 1998 Jul-Aug;12(4):243-8.
22. Jiang RS, Lin JF, Hsu CY. Correlations between bacteriology of the middle meatus and ethmoid sinus in chronic sinusitis. *J Laryngol Otol*. 2002;116:443-6.
23. Kim HJ, Lee K, Yoo JB, Song JW, Yoon JH. Bacteriological findings and antimicrobial susceptibility in chronic sinusitis with nasal polyp. *Acta Otolaryngol*. 2006 May;126(5):489-97.
24. Finegold SM, Flynn MJ, Rose FV, Jousimies-Somer H, Jakielaszek C,
25. McTeague M, et al. Bacteriologic findings associated with chronic bacterial maxillary sinusitis in adults. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2002 Aug 15;35(4):428-33.
26. Brook I. Microbiology of sinusitis. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2011 Mar;8(1):90-100.
27. Mantovani K, Bisanha AA, Demarco RC, Tamashiro E, Martinez R, Anselmo-Lima WT. Maxillary sinuses microbiology from patients with chronic rhinosinusitis. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*. 2010 Sep-Oct;76(5):548-51.
28. Niederfuhr A, Kirsche H, Deutschle T, Poppert S, Riechelmann H, Wellinghausen N. *Staphylococcus aureus* in nasal lavage and biopsy of patients with chronic rhinosinusitis. *Allergy*. 2008 Oct;63(10):1359-67.
29. Niederfuhr A, Kirsche H, Riechelmann H, Wellinghausen N. The bacteriology of chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery*. 2009 Feb;135(2):131-6.
30. Bhattacharyya N. Bacterial infection in chronic rhinosinusitis: A controlled paired analysis. *American journal of rhinology*. 2005;19(6):544-8.
31. Bhattacharyya N, Gopal HV, Lee KH. Bacterial Infection after Endoscopic Sinus Surgery: A Controlled Prospective Study. *The Laryngoscope*. 2004;114(4):765-7.
32. Clement S, Vaudaux P, Francois P, Schrenzel J, Huggler E, Kampf S, et al. Evidence of an intracellular reservoir in the nasal mucosa of patients with recurrent *Staphylococcus aureus* rhinosinusitis. *Journal of Infectious Diseases*. 2005;192(6):1023-8.

33. Plouin-Gaudon I, Clement S, Huggler E, Chaponnier C, Francois P, Lew D, et al. Intracellular residency is frequently associated with recurrent *Staphylococcus aureus* rhinosinusitis. *Rhinology*. 2006;44:249-54.
34. Stephenson MF, Mfunu L, Dowd SE, Wolcott RD, Barbeau J, Poisson M, et al. Molecular characterization of the polymicrobial flora in chronic rhinosinusitis. *Journal of otolaryngology - head & neck surgery*. 2010 Apr;39(2):182-7.
35. Littman DR, Pamer EG. Role of the commensal microbiota in normal and pathogenic host immune responses. *Cell Host Microbe*. 2011 Oct 4;10(4):311-23.
36. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science (New York, NY)*. 2009 Dec 18;326(5960):1694-7.
37. Robinson CJ, Bohannan BJ, Young VB. From structure to function: the ecology of host-associated microbial communities. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010 Sep;74(3):453-76.
38. Larson DA, Han JK. Microbiology of sinusitis: does allergy or endoscopic sinus surgery affect the microbiologic flora? *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*. 2011 Jun;19(3):199-203.
39. Ba L, Zhang N, Meng J, Zhang J, Lin P, Zhou P, et al. The association between bacterial colonization and inflammatory pattern in Chinese chronic rhinosinusitis patients with nasal polyps. *Allergy*. 2011.
40. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2001 Apr;107(4):607-14.
41. Bachert C, Zhang N, Patou J, van Zele T, Gevaert P. Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008 Feb;8(1):34-8.
42. Van Zele T, Gevaert P, Watelet JB, Claeys G, Holtappels G, Claeys C, et al. *Staphylococcus aureus* colonization and IgE antibody formation to enterotoxins is increased in nasal polyposis. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2004 Oct;114(4):981-3.
43. Corriveau MN, Zhang N, Holtappels G, Van Roy N, Bachert C. Detection of *Staphylococcus aureus* in nasal tissue with peptide nucleic acid-fluorescence in situ hybridization. *American journal of rhinology & allergy*. 2009 Sep- Oct;23(5):461-5.
44. Sachse F, Becker K, von Eiff C, Metzger D, Rudack C. *Staphylococcus aureus* invades the epithelium in nasal polyposis and induces IL-6 in nasal epithelial cells in vitro. *Allergy*. 2010 Nov;65(11):1430-7.
45. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2001 Apr;107(4):607-14.
46. Bernstein J, Ballou M, Schlievert PM. A Superantigen hypothesis for the pathogenesis of chronic hyperplastic sinusitis with massive nasal polyposis. *Am J Rhinol*. 2003;17:321-6.

47. Conley DB, Tripathi A, Seiberling KA, Schleimer RP, Suh LA, Harris K, et al. Superantigens and chronic rhinosinusitis:skewing of T-cell receptor V betadistributions in polyp-derived CD4+ and CD8+ T cells. *American journal of rhinology*. 2006 Sep-Oct;20(5):534-9.
48. Conley DB, Tripathi A, Seiberling KA, Suh LA, Harris KE, Paniagua MC, et al. Superantigens and chronic rhinosinusitis II: analysis of T-cell receptor V beta domains in nasal polyps. *American journal of rhinology*. 2006 Jul- Aug;20(4):451-5.
49. Tripathi A, Conley DB, Grammer LC, Ditto AM, Lowery MM, Seiberling KA, et al. Immunoglobulin E to staphylococcal and streptococcal toxins in patients with chronic sinusitis/nasal polyposis. *The Laryngoscope*. 2004;114(10 Pt 1):1822-6.
50. Wang M, Shi P, Yue Z, Chen B, Zhang H, Zhang D, et al. Superantigens and the expression of T-cell receptor repertoire in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Acta Otolaryngol*. 2008 Aug;128(8):901-8.
51. Patou J, Gevaert P, Van Zele T, Holtappels G, van Cauwenberge P, Bachert C. Staphylococcus aureus enterotoxin B, protein A, and lipoteichoic acid stimulations in nasal polyps. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2008 Jan;121(1):110-5.
52. Perez Novo CA, Jedrzejczak-Czechowicz M, Lewandowska-Polak A, Claeys C, Holtappels G, Van Cauwenberge P, et al. T cell inflammatory response, Foxp3 and TNFRS18-L regulation of peripheral blood mononuclear cells from patients with nasal polyps-asthma after staphylococcal superantigen stimulation. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2010 Sep;40(9):1323-32.
53. Langier S, Landsberg R, Sade K, Kivity S. Anti-IL-5 immunomodulates the effect of Staphylococcus aureus enterotoxin on T cell response in nasal polyps. *Rhinology*. 2011;49(5):570-6.
54. Wang M, Shi P, Chen B, Shi G, Li H, Wang H. Superantigen-Induced Glucocorticoid Insensitivity in the Recurrence of Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2011 Jul 4.
55. Bachert C, Zhang N, Holtappels G, De Lobel L, van Cauwenberge P, Liu S, et al. Presence of IL-5 protein and IgE antibodies to staphylococcal enterotoxins in nasal polyps is associated with comorbid asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2010 Nov;126(5):962-8, 8 e1-6.
56. Van Crombruggen K, Zhang N, Gevaert P, Tomassen P, Bachert C. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: Inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011;22(3):223-7.
57. Van Zele T, Vanechoutte M, Holtappels G, Gevaert P, van Cauwenberge P, Bachert C. Detection of enterotoxin DNA in Staphylococcus aureus strains obtained from the middle meatus in controls and nasal polyp patients. *American journal of rhinology*. 2008 May-Jun;22(3):223-7.

58. . Fokkens W, Lund V, Mullol J. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. *Rhinol Suppl.* 2007(20):1-136
59. . Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, et al. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. *Am jour rhinol.* 2008;22(6):549-59.
60. Falkow S. Molecular Koch's postulates applied to bacterial pathogenicity a personal recollection 15 years later. *Nat Rev Microbiol.* 2004 Jan;2(1):67-72.
61. Inglis TJ. Principia aetiologica: taking causality beyond Koch's postulates. *J Med Microbiol.* 2007 Nov;56(Pt 11):1419-22.
62. Suh JD, Cohen NA, Palmer JN. Biofilms in chronic rhinosinusitis. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery.* 2010 Feb;18(1):27-31.
63. Suh JD, Ramakrishnan V, Palmer JN. Biofilms. *Otolaryngologic clinics of North America.* 2010 Jun;43(3):521-30.
64. . Palmer JN. Bacter ial biofilms: Do they play a role in chronic sinusitis? *Otolaryngologic clinics of North America.* 2005;38(6):1193-201.
65. . Perloff JR, Palmer JN. Evidence of bacterial biofilms on frontal recess stents in patients with chronic rhinosinusitis. *Amer i c an journa l of rhinology.* 2004;18(6):377-80.
66. Ferguson BJ, Stolz DB. Demonstration of biofilm in human bacterial chronic rhinosinusitis. *American journal of rhinology.* 2005 Sep-Oct;19(5):452-7.
67. Ramadan HH, Sanclement JA, Thomas JG. Chronic rhinosinusitis and biofilms. *Otolaryngology - Head & Neck Surgery.* 2005;132(3):414-7.
68. Sanderson AR, Leid JG, Hunsaker D. Bacterial biofilms on the sinus mucosaof human subject s wi th chronic rhinosinusitis. *The Laryngoscope.*2006;116(7):1121-6.
69. . Sanclement JA, Webster P, Thomas J, Ramadan HH. Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic rhinosinusitis. *The Laryngoscope.* 2005;115(4):578-82.
70. Psaltis AJ, Weitzel EK, Ha KR, Wormald PJ. The effect of bacterial biofilms on post-sinus surgical outcomes. *American journal of rhinology.* 2008;22(1):1-6.
71. Prince AA, Steiger JD, Khalid AN, Dogrhamji L, Reger C, Eau Claire S, et al. Prevalence of biofilm-forming bacteria in chronic rhinosinusitis. *American journal of rhinology.* 2008 May-Jun;22(3):239-45.
72. Mladina R, Poje G, Vukovic K, Ristic M, Music S. Biofilm in nasal polyps. *Rhinology.* 2008 Dec;46(4):302-7.
73. Foreman A, Psaltis AJ, Tan LW, Wormald PJ. Characterization of bacterial and fungal biofilms in chronic rhinosinusitis. *American journal of rhinology & allergy.* 2009;23(6):556-61.
74. Suh JD, Cohen NA, Palmer JN. Biofilms in chronic rhinosinusitis. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery.* 2010 ;18(1):27-31.
75. Suh JD, Ramakrishnan V, Palmer JN. Biofilms. *Otolaryngologic clinics of North America.* 2010;43(3):521-30.

76. Bendouah Z, Barbeau J, Hamad WA, Desrosiers M. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is associated with an unfavorable evolution after surgery for chronic sinusitis and nasal polyposis. *Otolaryngology - Head & Neck Surgery*. 2006;134(6):991-6.
77. . Foreman A, Wormald PJ. Different biofilms, different disease? A clinical outcomes study. *The Laryngoscope*. 2010 Aug;120(8):1701-6.
78. . Foreman A, Jervis-Bardy J, Wormald PJ. Do Biofilms Contribute to the Initiation and Recalcitrance of Chronic Rhinosinusitis? *The Laryngoscope*. 2011(121):1085-91.
79. Ebbens F, Georgalas C, Fokkens W. Fungus as the cause of chronic rhinosinusitis: the case remains unproven. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2009;17:43-9.
80. Ebbens FA, Georgalas C, Fokkens WJ. The mold conundrum in chronic hyperplastic sinusitis. *Current allergy and asthma reports*. 2009;9(2):114-20.
81. . Braun H, Buzina W, Freudenschuss K, Beham A, Stammberger H. 'Eosinophilic fungal rhinosinusitis': a common disorder in Europe? *The Laryngoscope*. 2003 Feb;113(2):264-9.
82. . Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB, Homburger HA, Frigas E, Gaffey TA, et al. The diagnosis and incidence of allergic fungal sinusitis. *Mayo Clinic proceedings Mayo Clinic*. 1999 Sep;74(9):877-84.
83. Sasama J, Sherris DA, Shin SH, Kephart GM, Kern EB, Ponikau JU. New paradigm for the roles of fungi and eosinophils in chronic rhinosinusitis. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*. 2005 Feb;13(1):2-8.
84. Davis LJ, Kita H. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: role of airborne fungi and bacteria. *Immunology and allergy clinics of North America*. 2004 Feb;24(1):59-73.
85. Ponikau J, Sherris DA, Kephart GM, Kern EB, Congdon D, Adolphson CR, et al. Striking deposition of toxic eosinophil major basic protein in mucus: Implications from chronic rhinosinusitis. *Journal allergy clin immunology*. 2005;116(2):362-9.
86. . Ebbens FA, Scadding GK, Badia L, Hellings PW, Jorissen M, Mullol J, et al. Amphotericin B nasal lavages: not a solution for patients with chronic rhinosinusitis. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2006 Nov;118(5):1149-56.
87. Ebbens FA, Georgalas C, Luiten S, van Drunen CM, Badia L, Scadding GK, et al. The effect of topical amphotericin B on inflammatory markers in patients with chronic rhinosinusitis: a multicenter randomized controlled study. *The Laryngoscope*. 2009 Feb;119(2):401-8.
88. Orlandi RR, Marple BF. Fungus and chronic rhinosinusitis: weighing the evidence. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2010;143(5):611-3.
89. Orlandi RR, Marple BF. The role of fungus in chronic rhinosinusitis. *Otolaryngologic clinics of North America*. 2010;43(3):531-7.
90. . Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, et al. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. *American journal of rhinology*. 2008 Nov-Dec;22(6):549-59.

91. Ebbens FA, Fokkens WJ. The mold conundrum in chronic rhinosinusitis: where do we stand today? *Current allergy and asthma reports*. 2008 Apr;8(2):93-101.
92. Rudack C, Steinhoff M, Mooren F, Buddenkotte J, Becker K, von Eiff C, et al. PAR-2 activation regulates IL-8 and GRO-alpha synthesis by NF-kappaB, but not RANTES, IL-6, eotaxin or TARC expression in nasal epithelium. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2007 Jul;37(7):1009-22.
93. Van Crombruggen K, Van Bruaene N, Holtappels G, Bachert C. Chronic sinusitis and rhinitis: Clinical terminology Chronic Rhinosinusitis further supported. *Rhinology*. 2010 Mar 2;48(1):54-8.
94. Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, et al. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. *American journal of rhinology*. 2008;22(6):549-59.
95. Van Crombruggen K, Zhang N, Gevaert P, Tomassen P, Bachert C. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: Inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011.
96. Payne SC, Borish L, Steinke JW. Genetics and phenotyping in chronic sinusitis. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011 Jun 23.
97. Bent JP, 3rd, Kuhn FA. Diagnosis of allergic fungal sinusitis. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 1994 Nov;111(5):580-8.722. Ryan MW. Allergic fungal rhinosinusitis. *Otolaryngologic clinics of North America*. 2011 Jun;44(3):697-710.
98. . Hutcheson PS, Schubert MS, Slavin RG. Distinctions between allergic fungal rhinosinusitis and chronic rhinosinusitis. *American Journal of Rhinology and Allergy*. 2010;24(6):405-8.
99. Luong A, Davis LS, Marple BF. Peripheral blood mononuclear cells from allergic fungal rhinosinusitis adults express a Th2 cytokine response to fungal antigens. *American journal of rhinology & allergy*. 2009 May-Jun;23(3):281-7.
100. Pant H, Schembri MA, Wormald PJ, Macardle PJ. IgE-mediated fungal allergy in allergic fungal sinusitis. *The Laryngoscope*. 2009 Jun;119(6):1046-52.
101. Lee CG, Da Silva CA, Dela Cruz CS, Ahangari F, Ma B, Kang MJ, et al. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. *Annu Rev Physiol*. 2011 Mar 17;73:479-501.
102. Reese TA, Liang HE, Tager AM, Luster AD, Van Rooijen N, Voehringer D, et al. Chitin induces accumulation in tissue of innate immune cells associated with allergy. *Nature*. 2007 May 3;447(7140):92-6.
103. . Tan BK, Zirkle W, Chandra RK, Lin D, Conley DB, Peters AT, et al. Atopic profile of patients failing medical therapy for chronic rhinosinusitis. *International forum of allergy & rhinology*. 2011;1(2):88-94.
104. . Tomassen P, Van Zele T, Zhang N, Perez-Novo C, Van Bruaene N, Gevaert P, et al. Pathophysiology of chronic rhinosinusitis. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2011 Mar;8(1):115-20.

105. Keith PK, Conway M, Evans S, Wong DA, Jordana G, Pengelly D, et al. Nasal polyps: effects of seasonal allergen exposure. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 1994 Mar;93(3):567-74.
106. Robinson S, Douglas R, Wormald P-J. The relationship between atopy and chronic rhinosinusitis. *American journal of rhinology*. 2006;20(6):625-8.
107. Pearlman AN, Chandra RK, Chang D, Conley DB, Tripathi-Peters A, Grammer LC, et al. Relationships between severity of chronic rhinosinusitis and nasal polyposis, asthma, and atopy. *American journal of rhinology & allergy*. 2009 Mar-Apr;23(2):145-8.
108. Pant H, Ferguson BJ, Macardle PJ. The role of allergy in rhinosinusitis. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*. 2009 Jun;17(3):232-8.
109. Van Crombruggen K, Van Bruaene N, Holtappels G, Bachert C. Chronic sinusitis and rhinitis: Clinical terminology Chronic Rhinosinusitis further supported. *Rhinology*. 2010 Mar 2;48(1):54-8.
110. Tan BK, Li QZ, Suh L, Kato A, Conley DB, Chandra RK, et al. Evidence for intranasal antinuclear autoantibodies in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011 Oct 12(3):567-74.
111. Ryan MW. Allergic fungal rhinosinusitis. *Otolaryngologic clinics of North America*. 2011 Jun;44(3):697-710.
112. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2001 Apr;107(4):607-14.
113. Bachert C, Zhang N, Patou J, van Zele T, Gevaert P. Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008 Feb;8(1):34-8.
114. Zhang N, Holtappels G, Gevaert P, Patou J, Dhaliwal B, Gould H, et al. Mucosal tissue polyclonal IgE is functional in response to allergen and SEB. *Allergy*. 2011 Jan;66(1):141-8.
115. Larsen PL, Tos M. Origin of nasal polyps. *Laryngoscope*. 1991;101:305-312.
116. Larsen PL, Tos M. Origin of nasal polyps. Transcranially removed naso-ethmoidal blocks as a screening method for nasal polyps in an autopsy material. *Rhinology* 1995;3:185-88.
117. Larsen PL, Tos M. Origin of nasal polyps. Endoscopic nasal- and paranasal sinus surgery as a screening method for nasal polyps in an autopsy material. *Am J Rhinol*. 1996;10: 211-216.
118. Larsen K, Tos M. Clinical courses of patient with primary nasal polyps. *Acta Otolaryngol (Stockh)*. 1994;114:556-559.
119. Blumstein GI, Tuft L. Allergy treatment in recurrent nasal polyps. *Am J Med Sci*. 1957; 234:269-280.
120. English GM. Nasal polypectomy and sinus surgery in patients with asthma and aspirin idiosyncrasy. *Laryngoscope*. 1986;96:374-380.

121. Settupane GA. Nasal polyps: epidemiology, pathology, immunology and treatment. *Am J Rhinol.* 1987;8:119-126
122. Castelnovo P, Dallan I, Battaglia P, Bignami M. Endoscopic endonasal skull base surgery: past, present and future. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2010;267(5):649-63.
123. Larsen PL, Tos M. Nasal polyps- Epithelium and goblet cell density. *Laryngoscope.* 1990;99:1274-1280.
124. Blumstein GI, Tuft L. Allergy treatment in recurrent nasal polyps. *Am J Med Sci.* 1957;234:269-280.
125. Tos M, Larsen PL, Moller K. Goblet cell density in nasal polyps. *Ann Otol Rhinol.* 1990;99:310-315.
126. Mogensen C, Tos M. Density of goblet cells in the normal adult human nasal septum. *Anat Anz.* 1977;141:237-247.
127. Mogensen C, Tos M. Density of goblet cells on normal adult nasal turbinates. *Anat Anz.* 1977;142:322-330.
128. Tos M, Larsen P, Larsen K, Caye-Thomasen P. Nasal Polyps. In Casoli Stamm A, Drafi W, editors. *Micri endoscopic surgery of the paranasal sinuses and skull base.* Springer Verlag Berlin Heidelberg New York;2000. pp103-126.
129. Ellefsen P, Tos M. Pathological intraepithelial glands in human trachea. *Acta Otolaryngol (Stockh).* 1972;73:443-453.
130. Tos M, Bak-Pedersen K. Intraepithelial glands in the human Eustachian tube. *Arch Otolaryngol (Stockh).* 1972;96:546-552.
131. Tos M, Mogensen C. Experimental surgery of the nose. Anteroposterior changes of the mucosa on altering the air-flow. *Rhinology.* 1979;17:215-225.
132. Tos M. Goblet cells and glands in the nose and paranasal sinuses. In: Proctor D, Andersen J (eds) *The nose, upper air-way physiology and the atmospheric environments.* Elsevier, Amsterdam;1982. pp 99-140.
133. Jahnke V. Ultrastructure of the normal nasal mucosa in man. *Z Laryngol Rhinol Otol.* 1972;51:152-162.
134. Bernstein J. The immuno-histopathology and pathophysiology of nasal polyps. In: Settupane GA, Lund VJ, Bernstein JM, Tos M (eds) *Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment.* Oceanside, Providence;1997: pp 85-95
135. Hoffman HB, Wasserman SI. In: Settupane GA, Lund VJ, Bernstein JM, Tos M (eds) *Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment.* Oceanside, Providence;1997: pp 85-95
136. Tos M. The pathogenetic theories on formation of nasal polyps. *Am J Rhinol.* 1990;4:51-56
137. Dunne WM. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:155-166.
138. Zobel CE. The effects of solid surfaces on bacterial activity. *J. Bacteriol.* 1943;43:39-56.

139. Pearce D, Bazin MJ, Lynch JM. The rhizosphere as a biofilm. In H.M. Lappin-Scott and J.W. Costerton (ed.) *Microbial biofilms*, 1st ed. Cambridge University Press New York, NY 1995, p. 2017-20.
140. Costerton JW et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol.* 1987;41: 435-64.
141. Donlan RM. Biofilms: Microbial life surfaces. *Emerg Infect Dis.* 2002;8:881-90.
142. ZoBell CE, Allen CE. The significance of marine bacteria in the fouling of submerged surfaces. *J Bacteriol.* 1935;29:239-51.
143. Jones HC, Roth IL, Saunders WM III. Electron microscopic study of a slime layer. *J Bacteriol.* 1969; 99: 316-25.
144. Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ. How bacteria stick. *Sci Am.* 1978;238:86-95.
145. Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Rev.* 2000;64: 847-67.
146. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15: 167-93.
147. Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbial process. *Clin Infect Dis.* 2001;33:1387-92.
148. Cunliffe D et al. Bacterial adhesion at synthetic surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65:4995-5002.
149. Charachlis WG et al. Physiological ecology in biofilm systems. In: Charachlis WG, Marhal KC (ed). *Biofilms* New York: John Wiley Sons; 1990, p 341-94.
150. Fletcher M, Loeb GI. Influence of substratum characteristics on the attachment of a marine pseudomonad to solid surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 1979;37:67-72.
151. Wang IW, Anderson JM, Marchant RE. Staphylococcus epidermidis adhesion to hydrophobic biomedical polymer is mediated by platelets. *J Infect Dis.* 1993;167:329-36.
152. Roserberg M, Kjelleberg S. Hydrophobic interactions in bacterial adhesion. *Advances in Microbiol Ecol.* 1986;9:353-93.
153. Sinde E, Calballo J. Attachment of Salmonella spp. and Listeria monocytogenes to stainless steel, rubber and polytetrafluoroethylene: influence of commercial sanitizers. *Food Microbiol.* 2000;17:439-47.
154. O'Toole GA, Kolter R. The initiation of biofilm formation in Pseudomonas fluorescens WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: a genetic analysis. *Mol Microbiol.* 1998;28:449-61.
155. Donlan RM, Pipes WO, Yohe TL. Biofilm formation on cast iron substrata in water distribution systems. *Water Res.* 1994;28:1497-503.
156. Kumar CG, Anand SK. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *Int J Food Microbiol.* 1998;42: 9-27.
157. Pratt LA, Kolter R. Genetic analyses of bacterial biofilm formation. *Curr Opin Microbiol.* 1999;2:598-603.
158. O'Toole GA, Kolter R. Flagellar and twitching motility are necessary for Pseudomonas aeruginosa biofilm development. *Mol Microbiol.* 1998;30:295-304.

159. Watnick I, Fullner KJ, Kolter R. A role for the mannose-sensitive hemagglutinin in biofilm formation by *Vibrio cholerae* El Tor. *J Bacteriol.* 1999;181:3606-9.
160. Christensen BE. The role of extracellular polysaccharides in biofilms. *J Biotechnol.* 2000;10:181-212.
161. Sutherland IW. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiol.* 2001;147:3-9.
162. Poulsen LV. Microbial biofilm in food processing. *Food microbial.* 1999.;32:321-6.
163. Davies DG et al. The involvement of cell to cell signals in the development of bacterial biofilm. *Sci.* 1998;280:295-8.
164. Stickler DJ et al. Biofilms on indwelling urethral catheters produce quorum sensing signal molecules in situ and in vitro. *Appl Environ Microbiol.* 1998;64:3486-90.
165. Hartman G, Wise R. Quorum sensing : potential means of treating gram negative infections? *Lanc.* 1998;351:848-9.
166. Wilson M, Hamilos D. The Nasal and Sinus Microbiome in Health and Disease. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2014; 14:485-95.
167. Feazel LM, Robertson CE, Ramakrishnan VR, Frank DN. Microbiome complexity and *Staphylococcus aureus* in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2012;122(2):467–72.
168. Sheikh AF et al. Detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis* in patients with paranasal chronic sinusitis by polymerase chain reaction method. *Journal of the Chinese Medical Association.* 2016;in press
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcma.2016.03.002>
169. Hai PVT et al. The effect of endoscopic sinus surgery on bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. *Otolaryng Head Neck Surg.* 2010; 142:27-32.
170. Singhal D et al. *Staphylococcus aureus* biofilms: nemesis of endoscopic sinus surgery. *Laryngoscope.* 2011; 121:1578–1583.
171. Stepanović S et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS.* 2007;115(8):891-9.
172. Stepanovic S et al. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods.* 2000;40; 175-9.

BIOGRAFIJA AUTORA

Bojan Pavlović je rođen 2. maja 1974. godine u Vrnjačkoj Banji gde je završio Gimnaziju.

Diplomirao na Medicinskom fakultetu u 2000. godinesa prosečnom ocenom 8,74.

Specijalizaciju iz otorinolaringologije započeo oktobra 2002. godine na Medicinskom fakultetu u Beogradu i Klinici za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije. Specijalistički ispit položio sa odličnom ocenom oktobra 2006. godine.

Zaposlen je u Klinici za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije od 2004. godine.

Magistrirao je na Medicinskom fakultetu u Beogradu 2009. godine, na smeru otorinolaringologija.

Autor je saradnik više stručnih radova objavljenih u domaćim i međunarodnim časopisima.

Prezentovao svoje radove na više domaćih i međunarodnih skupova.

Izabran za kliničkog asistenta na katedri za otorinolaringologiju sa maksilofacijalnom hirurgijom Medicinskog fakulteta u Beogradu od 2011. godine.

Od 2008. do 2015. godine član Predsedništva i sekretar Otorinolaringološke sekcije Srpskog lekarskog društva. U navedenom periodu bio je član organizacionog odbora velikog broja stručnih sastanaka.

Od 2015. godine sekretar Udruženja otorinolaringologa Srbije.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani BOJAN M. PAVLOVIĆ

broj upisa _____

Izjavljujem

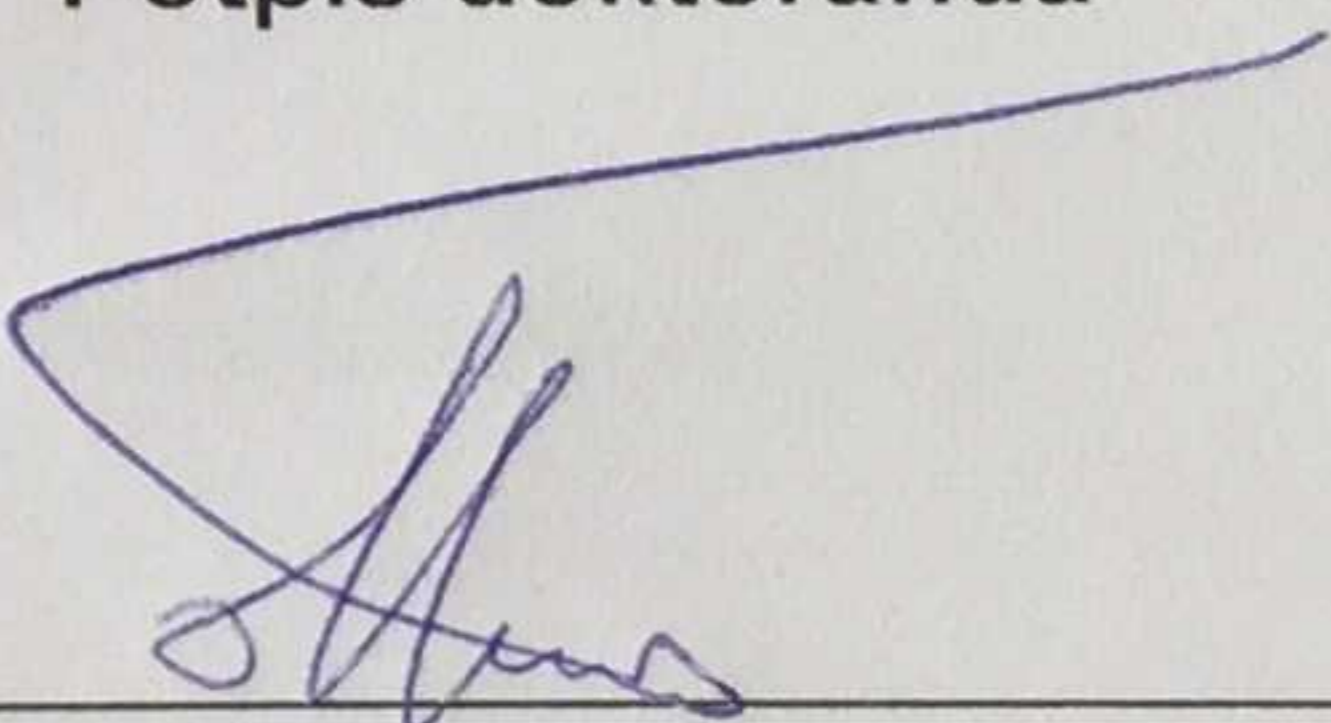
da je doktorska disertacija pod naslovom

PREDIKTIVNI ZNAČAJ KLINIČKIH I MIKROBIOLOŠKIH KARAKTERISTIKA NOSNO-SINUSNE POLIPOZE NA ISHOD OPERATIVNOG LEČENJA

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 23.5.2016.godine



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora BOJAN M. PAVLOVIĆ

Broj upisa _____

Studijski program OTORINOLARINGOLOGIJA

Naslov rada PREDIKTIVNI ZNAČAJ KLINIČKIH I MIKROBIOLOŠKIH
KARAKTERISTIKA NOSNO-SINUSNE POLIPOZE NA ISHOD OPERATIVNOG
LEČENJA

Mentor prof.dr Jovica Milovanović

Potpisani _____

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 23.5.2016.godine



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

PREDIKTIVNI ZNAČAJ KLINIČKIH I MIKROBIOLOŠKIH KARAKTERISTIKA NOSNO-SINUSNE POLIPOZE NA ISHOD OPERATIVNOG LEČENJA

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

U Beogradu, 23.5.2016.godine

Potpis doktoranda

