

## AKUT SİGARA DUMANI MARUZİYETİNİN BAKTERİ ADERENSİNE ETKİSİ

Yılmaz BÜLBÜL \*  
Tevfik ÖZLÜ \*

### ÖZET

Sigaranın bakteriyel aderensi arttığı bilinmektedir. Ancak saptanan bu aderens artışının sigara dumanının akut etkisine mi, yoksa kronik sigara içimiyle ilişkili olarak epitel hücrelerinde oluşan olası yapısal ve/veya fonksiyonel değişikliklere mi bağlı olduğu açık değildir. Bu çalışma, akut sigara dumanı maruziyetinin bukkal epitel hücrelerine (BEH) bakteriyel aderensi etkileyip etkilemediğini saptamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya 20 erkek ve 10 kadın olmak üzere ortalama yaşları  $24.9 \pm 3.64$  olan toplam 30 kişi alındı. Donörler, *S. pneumoniae* ve *E. coli* aderensi çalışılmak üzere iki gruba ayrıldı. BEH, polikarbonat membran filtre üzerinde phosphate buffered saline (PBS) ile yıkanıp süzüldü ve ardından PBS içinde 104 hücre/ml ve yine PBS içinde 107 bakteri/ml içeren süspansiyonlar hazırlandı. Daha sonra, BEH ve bakteri sigaralı ortamda birlikte, sigaraya maruz kalmış BEH ile sigaraya maruz kalmamış bakteri ve sigaraya maruz kalmış bakteri ile sigaraya maruz kalmamış BEH shaker içinde inkübe edildi. Sigarasız ortamda her iki örneğin inkübasyonu ile de kontrol grubu oluşturuldu. 1 saatlik inkübasyon sonunda hücrelere yapışan bakteriler sayıldı.

Sigaraya maruz bırakılan tüm örneklerin ortalama bakteriyel aderensi, kontrol grubuna benzer bulundu. *S. pneumoniae* için sigaralı örneklerin aderensi  $6.0 \pm 0.92$ /hücre ve kontrol grubu aderensi  $8.2 \pm 1.7$ /hücre ( $p: 0.2387$ ) idi. Bu değerler *E. coli* için sırası ile ( $17.7 \pm 2.25$ /hücre ve  $20.5 \pm 4.1$ /hücre ( $p: 0.5276$ )) olarak bulundu. Sigaraya maruz bırakılan her bir örnek tek tek kontrol ile karşılaştırıldığında da arada fark olmadığı görüldü.

\* Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, TRABZON

### Yazışma adresi:

Dr. Tevfik ÖZLÜ  
P. K. 182 TRABZON  
Tel: 0 462 3253246 Fax: 0 462 3252270

Sonuçlarımız, daha önce kronik sigara içenlerde yapılan ve aderensin arttığını rapor eden çalışmaların aksine, akut sigara dumanının *S. pneumoniae* ve *E. coli*'nin BEC'e aderensini etkilemediğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Sigara, bakteriyel aderens, sigara dumanı

### SUMMARY

### INFLUENCE OF ACUTE CIGARETTE SMOKE ON BACTERIAL ADHERENCE

The increased bacterial adherence has been reported in cigarette smokers. But, it is not apparent whether enhanced bacterial adherence is due to acute effect of smoke or changes of structure and/or function of the epithelium associated with chronic smoking. The aim of this study was to investigate whether the bacterial adherence to buccal epithelial cells (BEC) is influenced from the acute exposure of cigarette smoke.

30 normal subjects, with a mean age of  $24.9 \pm 3.64$  years were selected for this study. The subjects were divided into two groups. *S. pneumoniae* adherence was studied in the first half and *E. coli* adherence was studied in the second half. After washing and filtering BEC by a polycarbonate membrane filter, the suspensions including BEC (104 cells per ml) and bacteria (107 bacteria per ml) were prepared in phosphate buffered saline (PBS). Then, both smoke-treated BEC and bacteria, smoke-treated BEC with smoke-untreated bacteria and smoke-treated bacteria with smoke-untreated BEC were incubated in a shaking water bath. Smoke-untreated bacteria and BEC were used as control. After 1 hour incubation period, the number of adherent bacteria to epithelial cells were counted.

The average number of adherent bacteria to the epithelium in all smoke-treated suspensions was similar to control group for *S. pneumoniae* ( $6.0 \pm 0.92$ /cell vs.  $8.2 \pm 1.7$ /cell,  $p: 0.2387$ ) and for *E. coli* ( $17.7 \pm 2.25$ /cell vs.  $20.5 \pm 4.1$ /cell,  $p: 0.5276$ ). Each smoke-treated sample was also compared to control group alone and the results were insignificant. In contrary to previous studies, which showed increased bacterial adherence to epithelial cells in chronic cigarette smokers, our findings suggest that acute exposure of bacterium and / or epithelium to smoke has no significant effect on the adherence of *S. pneumoniae* and *E. coli* to BEC.

**Key Words:** Smoking, bacterial adherence, cigarette smoke

## GİRİŞ

Sigara içenlerde solunumsal enfeksiyonların sıklığı ve şiddeti artmaktadır (1,2). Bu artış, daha çok sigaranın solunumsal savunma mekanizmaları üzerindeki depressif etkilerine bağlanmaktadır (3,4). Sigaranın konakçı üzerindeki bu depressif etkileri yanında, etken mikroorganizmanın spektrumunu değiştirerek ve/veya mikroorganizmanın konakçı ile etkileşiminde bir değişime yol açarak aynı yönde aditif bir etkiye sahip olup olmadığı ise bilinmemektedir. Mamafih, sigaranın doğrudan bakteriler üzerine bazı etkileri olduğu rapor edilmiştir (5,6). Sigara dumanına maruz bırakılan bakterilerin üremelerinin baskılandığı; ancak bu depresyonun bakteri cinsine göre farklı şiddette olduğu önceki bir çalışmamızda gösterilmiştir (7). Bu farklı etkinin sonucunda gerek kolonizasyon gerekse de enfeksiyona yol açan bakterilerin, sigara içenlerde içmeyenlerden farklı olması mümkündür. Nitekim, bazı solunumsal patojenlerin sigara içenlerde daha sık rastlandığı bildirilmiştir (8,9). Sigara içen ve içmeyenlerin orofarenjyal florası üzerinde yaptığımız bir taramada, sigaranın in-vitro depressif etkisine en duyarlı bulunan Neisseria grubu bakterilerin sigara içenlerin florasında azaldığı gözlenmiştir (10). Bu gözlem, kolonizasyon ve/veya enfeksiyon ajanlarının sigaraya bağlı seleksiyonu hipotezimizi güçlendirmektedir. Yine, sigaraya maruz bıraktığımız ratlarda alt solunum yollarına bakteri kolonizasyonunun artmış olduğu saptanmıştır (11). Bu, sigara içen kronik bronşitlilerde alt solunum yollarında bildirilen artmış kolonizasyondan (12) farklı bir bulgudur. Zira bizim sigara ile muamele ettiğimiz ratlar, kronik bronşitik değişikliklerinden hiçbirisini taşıyamıyordu. Gerek enfeksiyon, gerekse de kolonizasyon ile sonuçlansın, bir mikroorganizmanın konakçı ile ilk ilişkisi aderensdir. Sigaranın bakteriyel aderensi arttırdığı rapor edilmiştir (12-14). Ancak bu çalışmaların hemen hepsi uzun süreli sigara içen gönüllülerde yapılmıştır. Dolayısıyla aderens artışının kronik sigara içimine bağlı konakçı epitel hücrelerindeki yapısal/fonksiyonel, kronik değişikliklere bağlı olması muhtemeldir. Oysa pasif sigara içicilerde olduğu gibi, sigara ile ilişkili bu tür değişiklikleri taşımayanlarda sigara dumanına maruz kalmanın bakteri aderensini etkileyip etkilemediği açık değildir.

Bu çalışmada öncekilerden farklı olarak hiç sigara içmemiş gönüllülerden alınan ve kronik sigara içimi ile ilişkili olası değişiklikleri taşımayan epitel hücreleri kullanılmış ve Streptococcus pneumoniae ve Escherichia coli'nin bukkal epitel hücrelerine aderensinin, in-vitro olarak sigara dumanı maruziyeti ile değişip değişmediği araştırılmıştır.

## MATERYAL - METOD

**Donör Seçimi:** Çalışmaya aktif ya da pasif sigara içiciliği ve solunumsal bir hastalığı olmayan, 20 'si erkek ve 10 'u kadın olmak üzere toplam 30 sağlıklı donör alındı.

**Hücre Örneklerinin Hazırlanması:** Bukkal epitel hücreleri (BEH), donörlerin yanak mukozası steril metal bir abesleng ile hafifçe sıyrılarak alındı. Alınan epitel hücreleri 8°C 'de 10 cc phosphate buffered saline (PBS) içinde süspanse edildi ve 30 saniye süreyle vortexte karıştırıldı. Oral florada mevcut olan, ancak hücrelere adhere olmamış bakterilerin uzaklaştırılması amacıyla süspanسیون 10 µm. porlu 25 mm çaplı polikarbonat filtre (Millipore) üzerinde PBS ile yıkandı. Ardından, filtrat tekrar 10 cc PBS içinde süspanse edildi. İşlem sonucunda PBS içinde 104 hücre / ml içeren hücre süspanسیونu elde edildi (13,15). (Hücre sayısı, Thoma lamı ile belirlendi.)

**Bakteri Süspanسیونlarının Hazırlanması:** Vakaların hepsinde insan solunum yolu örneklerinden izole edilmiş Streptococcus pneumoniae ve Escherichia coli suşu kullanıldı. Bir gün öncesinde kanlı agara ekilen bakterilerden ertesi gün PBS içinde 107 bakteri / ml içeren süspanسیونlar hazırlandı. Bakteri yoğunluğu Mc Farland bulanıklık yöntemiyle tayin edildi. Sigara Dumanı: Çalışmada filtrelili sigara kullanıldı. Sigara yakıldıktan sonra, sigara ağızlığı vasıtasıyla bir enjektöre 50 cc sigara dumanı aspire edildi. Daha sonra aspire edilen duman ağızlığı pamukla kapalı olan 50 cc hacimli erlenler içerisine ilave edildi (16).

**Sigaraya Maruz Kalmış Epitel ve Bakteri Süspanسیونlarının Hazırlanması:** Hem bakteri hem de epitel hücreleri ayrı ayrı erlenler içinde 50 cc sigara dumanı ile shaker içinde 1/2 saat süreyle muamele edilip, ardından santrifüj edildi. Daha sonra supernatan dökülüp üzerlerine ayrı ayrı PBS ilave edilerek süspanسیون hazırlandı.

**İnkübasyon:** Yukarıda açıklandığı üzere, her bir donör için tablo I'de belirtilen örnekleri içeren beş adet 50 cc 'lik erlen hazırlandı ve daha sonra shaker ( Gesellschaft für Labortechnik mbH D-30938 Burgweddl Tıp: 1086)

**Tablo I: İnkübasyon için hazırlanan erlenler ve içerikleri.**

1. Erlen: Bazal aderens saptanması için 1 cc epitel hücresi, 1 cc PBS ile inkübe edildi.
2. Erlen: Kontrol grubu olarak, 1 cc epitel ve 1 cc bakteri süspanسیونu sigarasız ortamda inkübe edildi.
3. Erlen: 1 cc epitel ve 1 cc bakteri süspanسیونu birlikte, sigara dumanı içeren erlen içinde inkübe edildi.
4. Erlen: Önceden sigaraya maruz kalmış 1 cc epitel, 1 cc bakteri süspanسیونu ile inkübe edildi.
5. Erlen: Önceden sigaraya maruz kalmış 1 cc bakteri süspanسیونu, 1 cc epitel ile inkübe edildi.

çinde 37°C de 1 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda adere olmamış bakterilerin

porlu polikarbonat filtre (Millipore) üzerinde süzülerek yaklaşık 50 cc PBS ile yıkandı. Daha sonra lam üzerine aktarılan hücreler metil alkolle tesbit edilip, gram boyama yöntemiyle boyandı. 100 'lük objektif altında her bir preparatta toplam 50 epitel hücresine tutunmuş bakteri adeti sayıldı. Bulunan total bakteri sayısı 50 'ye bölünerek hücre başına düşen bakteri sayısı tesbit edildi.

Son olarak, ilk preparatta her donör için ayrı ayrı saptanan bazal aderens miktarı, ilgili donöre ait her preparattan tek tek düşülerek gerçek aderens değeri saptandı (12,13,16).

**İstatistiksel yöntem:** Verilerin analizinde SPSS student's versiyon istatistik paket programı kullanıldı. Gruplar parametrik varsayımları yerine getirmediğinden ve bağımsız olduğundan, ortalama aderens yönünden ikişerli karşılaştırmada Mann Whitney-U testi kullanılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak ifade edildi. Anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alındı.

## BULGULAR

Çalışmaya 20 erkek ve 10 kadın olmak üzere toplam 30 donör alındı. Donörlerin yaş ortalaması pnömokok çalışılan vakalarda  $24.2 \pm 4.75$  ve E. coli çalışılan vakalarda  $26.3 \pm 3.29$  idi ve ayrıca tüm vakaların yaş ortalaması  $24, 9 \pm 3.64$  idi. 10 erkek ve 5 kadın olmak üzere toplam 15 kişide pnömokok, kalan 15 kişide (10 erkek ve 5 kadın) de E. coli aderens çalışıldı.

Bazal aderens: PBS ile yıkamakla hücrelerden uzaklaştırılmayan ve çalışmamızda bazal aderens olarak belirtilen bakteri sayıları, pnömokok aderensinin çalışıldığı vakalarda  $8.3 \pm 1.5$  / hücre ve E. coli aderensinin çalışıldığı vakalarda  $11.5 \pm 2.8$  / hücre olarak bulunmuştur.

Kontrol grubu aderens: Kontrol grubu aderens S. pneumoniae için  $8.2 \pm 1.7$  / hücre ve E. coli için ise  $20.5 \pm 4.1$  / hücre olarak saptanmıştır.

Sigaraya maruz bırakılan örneklerde aderens: Sigaraya maruz kalmış tüm grupların aderens ortalaması S. pneumoniae için  $6.0 \pm 0.92$  / hücre ve E.coli için ise  $17.7 \pm 2.25$  / hücre olarak bulunmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sigaranın bakteriyel aderensle anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür (Tablo II).

**Tablo II:** Sigaraya maruz bırakılmış tüm örneklerin ortalama aderens

BAKTERİ	Ortalama bakteriyel aderens / hücre		
	Kontrol	Sigaralı örnekler	p
S. pneumoniae	$8.2 \pm 1.7$	$6.0 \pm 0.92$	0.2387
E. coli	$20.5 \pm 4.1$	$17.7 \pm 2.25$	0.5276

**Tablo III.** Sigaralı ortamdaki örneklerde bulunan ortalama bakteriyel aderens

BAKTERİ	Ortalama bakteriyel aderens / hücre*			
	Kontrol	Sigaralı ortamda bakterinin BEH'e aderensi	Sigaraya maruz kalmış BEH'e bakteri aderensi	Sigaraya maruz kalmış bakterinin BEH'e aderensi
S.pneumoniae	$8.2 \pm 1.7$	$8.4 \pm 1.8$	$3.5 \pm 0.95$	$6.2 \pm 1.8$
E. coli	$20.5 \pm 4.1$	$19.9 \pm 4.2$	$17.0 \pm 4.0$	$16.3 \pm 3.2$

\*Tüm örneklerde aderens, istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı bulunmamıştır.

Sigaraya maruz bırakılan örneklerde elde edilen diğer aderens miktarları Tablo III. de ayrı ayrı verilmektedir.

Bulgularımız, bakteri veya epitel hücresinin birlikte veya tek tek sigara dumanına maruz bırakılmasının, Streptococcus pneumoniae ve Escherichia coli aderensini etkilemediğini ortaya koymaktadır.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada sigaranın bakteri aderensini arttırdığını rapor eden önceki çalışmalardan farklı olarak, sigaraya bağlı kronik değişiklikleri taşımayan epitel hücresinde, in-vitro bakteri aderensinin akut sigara dumanı maruziyetiyle değişip değişmediği araştırılmıştır. Çalışmamız, pasif içicilerde mikroorganizmaların solunum yoluna aderensinin değişip değişmediğinin anlaşılması yanında; aderens artışının sigaranın akut veya kronik etkisine mi bağlı olduğunu ve bu etkinin epitel üzerinden mi yoksa bakteri üzerinden mi ortaya çıktığını açıklayacak şekilde dizayn edilmiştir. Çalışmamızda bulunan bazal aderens değerleri (pnömokok aderensinin çalışıldığı vakalarda  $8.3 \pm 1.5$ , / hücre, E. coli aderensinin çalışıldığı vakalarda  $11.5 \pm 2.8$  / hücre) diğer çalışmalarda belirtilen verilere benzer bulunmuştur (13,14,17). Sigarasız ortamda, epitel hücresi ve bakterinin birlikte inkübe edildiği kontrol

grubunda aderens; pnömokoklarda  $8.2 \pm 1.7$  / hücre, E. coli için ise  $20.5 \pm 4.1$  / hücre olarak saptanmıştır. Bu değerler, diğer çalışmalarda belirtilen verilere göre daha düşüktür (13,15,18,19). Bu farklılık kullanılan S. pneumoniae tipinin farklı olması ve uygulanan yöntemdeki farklılıklar ile açıklanabilir. Nitekim Fainstain ve Musher tarafından yapılan bir çalışmada, tip I S. pneumoniae'nın faringeal hücrelere tip III S. pneumoniae'dan daha iyi adere olduğu gösterilmiştir (13). Bizim çalışmamızda bakteri tipi tayini yapılamamıştır. Yine bazı çalışmalarda da bakteri yoğunluğu ve inkübasyon süresi bize göre daha düşük tutulmuştur.

Tüm sigaralı grupların ortalama aderensi pnömokok için  $6.0 \pm 0.92$  / hücre olarak bulunmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sigaranın aderensi arttırdığı gözlenmiştir. Bu değer E. coli için  $17.7 \pm 2.25$  / hücre olarak saptanmıştır ki bu da kontrol grubuna göre bir değişiklik ifade etmemektedir. Dolayısıyla akut sigara dumanı maruziyetinin tek başına S. pneumoniae ve E. coli aderensini artırıcı bir faktör olmadığı izlenmiştir. Daha önce yapılmış çalışmalarda bu bulguyu indirekt olsa da destekleyen veriler mevcuttur. Sigarayı bırakan insanlarda, sigaranın bırakılmasından sonra üç yıl kadar süreyle bakteriyel aderensin yüksek kalması, aderens artışının direkt sigara dumanı akut maruziyeti ile değil, sekonder kronik değişikliklerle ilgili olduğunu düşündürmektedir (14). Bir başka çalışmada, günde 1 paketten daha az sigara içenlerin trakeası çoğunlukla steril bulunurken, daha fazla sigara içenlerin yaklaşık yarısında trakeal kolonizasyon saptanmıştır (12). Bu bulgu içilen sigara miktarının da aderense önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Finklea ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da özellikle ağır sigara içicilerde solunumsal enfeksiyonların daha fazla görüldüğü belirtilmiştir (20).

Raman ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, sigara içmeyen insanlardan alınan epitel hücreleri, sigara içen insanların tükürüğü ile inkübe edilmiş ve tip 25 pnömokok aderensinde artış saptanmıştır. Yazar, bu aderens artışının olasılıkla sigara içen insanların tükürüğündeki non-sellüler ajanların bukkal epitel hücrelerinin yüzey yapılarını değiştirilmesi ile gerçekleştiğini ve tükürüğün S. pneumoniae için bağlanma bölgeleri oluşturduğunu ileri sürmüştür (14). Yine aynı çalışmada, tükürükteki amilazın sigara içenlerde arttığı belirtilmiş ve tripsin ile fibronektinin uzaklaştırılmasının P. aeruginosa aderensini arttırdığını gösteren çalışma (21) örnek gösterilmiştir. Johansen ve arkadaşlarının çalışmasında da epitel hücrelerinin tripsin ile muamelesinin P. aeruginosa ve K. pneumoniae

aderensini arttırdığı gösterilmiştir (22). Bunun aksine, reseptör olarak fibronektine bağlanan S. pyogenes (grup A streptokok) 'in ise tripsin ile muamele edilen insan farinks hücrelerine aderensinin azaldığı gösterilmiştir (18,23). Bilindiği gibi tükürük amilaz ve tripsin dahil birçok enzim içermektedir. Burada olay, muhtemelen kronik sigara içimi nedeniyle tükürük muhtevasında farklılık olması ve buna sekonder hücrelerin yüzey reseptörlerinin değişikliğe uğramasıdır. Bu bilgiler bakterilerin epitele aderensinin, bakteri ve epitel cinsine bağımlı olarak farklı mekanizmalarla olduğunu ortaya koymaktadır. Sigaranın aderense etkisinin de buna bağlı olarak, bakteri ve epitel cinsiyel değişiklik göstermesi olasıdır. Bu farklı etki, giriş kısmında belirtilen solunum yolunda kolonizasyon ve enfeksiyon oluşturan bakterilerin sigaraya bağlı seleksiyonu hipotezimizle uyumludur.

Bu çalışmada bulunan değerlere dikkatli bakıldığında sigaralı gruplarda saptanan aderens değerlerinin, istatistiksel olarak bir anlam ifade etmese de, kontrol grubundan hafif düşük olduğu görülmektedir. Yani, önceki çalışmaların aksine, bakteriyel aderense bir miktar azalma olduğu görülmektedir. Bu sonuç, sigara dumanı içerisindeki toksik maddelerin bakteri aderensini negatif yönde etkileyebileceği şeklinde açıklanabilir. Nitekim bazı çalışmalarda sigara dumanının bakteriyel üremeyi, gram pozitif koklarda daha belirgin olmak üzere inhibe ettiği gösterilmiştir (5,7).

Sonuçlarımız, önceki çalışmalarda bildirilen, sigaraya bağlı bakteriyel aderens artışının sigarayla ilişkili olarak konakçı epitelinde ortaya çıkan kronik yapısal/fonksiyonel değişikliklerden kaynaklandığını ve bunun uzun süreli sigara içimiyle ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir. Pasif içicilerde olduğu gibi, önceden bu tür değişiklikleri taşımayan kişilerin akut olarak sigara dumanına maruz kalmaları bakteri aderensini etkilememektedir.

## KAYNAKLAR

1. Graham NMH. The epidemiology of acute respiratory tract infections in children and adults: a global perspective. Epidemiol Rev 1990; 12: 149-178.
2. Blake GH, Abell TD, Stanley WG: Cigarette smoking and upper respiratory infection among recruits in basic combat training. Ann Int Med 1988; 109: 198-202.
3. Green GM, Jakab GJ, Low RB, Davis GS: Defense mechanisms of the respiratory membrane. Am Rev Respir Dis 1977; 115: 479-514.

4. Wanner A. Clinical aspects of mucosiliary transport. *Am Rev Respir Dis* 1977; 116: 73-125.
5. Ertel A, Eng R, Smith SM: The differential effect of cigarette smoke on the growth of bacteria found in humans. *Chest* 1991; 100: 628-630.
6. Bardell D. Viability of six species of normal oropharyngeal bacteria after exposure of cigarette smoke in vitro. *Microbios* 1981; 127: 7-13.
7. Özlü T, Özinel MA, Tokbaş A, Erdinç E. In vitro effect of cigarette smoke on the growth of bacterial flora in the respiratory tract. *J Smoking Related Dis* 1994; 5: 33-35.
8. Lipsky BA, Boyko EJ, Inui TS, et al. Risk factors for acquiring pneumococcal infections. *Arc Intern Med* 1986; 146: 2179-2181.
9. Reingold AL. Role of Legionella in acute infections of the lower respiratory tract. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 1018-1028.
10. Özlü T, Felek S, Kılıç SS. Comparison of oropharyngeal flora in smokers and non-smokers. *J Smoking Related Dis* 1994; 5: 37-40.
11. Özlü T, Çay M, Akbulut A, Yekeler H, Nazıroğlu M, Aksakal M. The facilitating effect of cigarette smoke on the colonisation of instilled bacteria into the tracheal lumen in rats and the improving influence of supplementary vitamin E on this process. *Respirology* 1999; 4: (In Press)
12. Irvin RS, Erickson AD, Pratter MR, Corrao WM, Garrity FL, Meyers JR, Kaemmerlen JT: Prediction of tracheobronchial colonisation in current cigarette smokers with chronic obstructive bronchitis. *J Infect Dis*. 1982; 145: 234-241.
13. Fainstain V, Musher DM: Bacterial adherence to pharyngeal cells in smokers, nonsmokers and chronic bronchitis. *Infec Immun* 1979; 26: 178-182.
14. Raman AS, Swinburne AJ, Fedullo AJ: Pneumococcal adherence to buccal epithelial cells of cigarette smokers. *Chest* 1983; 83: 23-27.
15. Fainstein V, Musher DM, Cate TR: Bacterial adherence to pharyngeal cells during viral infection. *J Infect Dis*. 1980; 141: 172-176.
16. Green GM, Carolin D: The depressant effect of cigarette smoke on the in vitro antibacterial activity of alveolar macrophages. *N Eng J Med* 1967; 276: 421-427.
17. Gibbons RJ, van Houte J: Selective bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinant. *Infec Immun* 1971; 3: 567-573.
18. Ellen RP, Gibbons RJ: Parameters affecting the adherence and tissue tropisms of Streptococcus pyogenes. *Infec Immun* 1974; 9: 85-91.
19. Bruce AW, Chan RY, Pinkerton D, Morales A, Chadwick P: Adherence of gram negative uropathogens to human uroepithelial cells. *The Journal of Urology* 1983; 130: 293-298.
20. Finklea JF, Hasselblad V, Sandifer SH, Hammer DI, Lowrimore GR: Cigarette smoking and acute non-influenzal respiratory disease in military cadets. *Am J Epidem* 1971; 93: 457-462.
21. Woods DE, Straus DC, Johanson WG, Bass JA: Role of fibronectin in the prevention of adherence of Pseudomonas aeruginosa to Buccal Cells. *J Infect Dis* 1981; 143: 784-790.
22. Johansen WG, Woods DE, Chaudhuri T: Association of respiratory tract colonisation with adherence of gram negative bacilli to epithelial cells. *J Infect Dis*. 1979; 139: 667-673.
23. Finlay BB, Falkow S: Common themes in microbial pathogenicity. In: *Microbiological Reviews* 1989; 53: 210-230.