



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAHRAMANMARAŞ İL MERKEZİNDEKİ ÇEŞİTLİ
SOĞUTMA SİSTEMLERİ VE SU KAYNAKLARINDAN
LEGİONELLA CİNSİ BAKTERİLERİN
TANIMLANMASI

Sibel DAĞLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOĞİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ-2018

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ İL MERKEZİNDEKİ ÇEŞİTLİ SOĞUTMA
SİSTEMLERİ VE SU KAYNAKLARINDAN *LEGIONELLA* CİNSİ
BAKTERİLERİN TANIMLANMASI

Sibel DAĞLI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ekrem KİREÇCİ

Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Filiz ORAK

Jüri Üyesi

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

KAHRAMANMARAŞ-2018

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Sibel DAĞLI tarafından hazırlanan “Kahramanmaraş İl Merkezindeki Çeşitli Soğutma Sistemleri ve Su Kaynaklarından *Legionella* Cinsi Bakterilerin Tanımlanması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 05/12/2018 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ekrem KİREÇCİ (DANIŞMAN)

Tıbbi Mikrobiyoloji

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Filiz ORAK (ÜYE)

Tıbbi Mikrobiyoloji

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ (ÜYE)

Biyoloji

Gaziantep Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet BOŞNAK

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sibel DAĞLI

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2017/1-66 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışmamın tüm aşamalarında, kendisine akademik anlamda ne zaman ihtiyacım olsa büyük sabırla ve ilgiyle faydalı olabilmek için elinden geleni yapan ve gelecekteki akademik hayatımda büyük öneme sahip bilgi ve donanımlarla beni mezun edecek olan kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Ekrem KİREÇCİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarının bilinci ile yetiştiren ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen yaşamımdaki en değerli varlığım olan aileme sonsuz teşekkürler.

Bu araştırma, 2017/1-66 YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Sibel DAĞLI

Kahramanmaraş İl Merkezindeki Çeşitli Soğutma Sistemleri ve Su Kaynaklarından *Legionella* Cinsi Bakterilerin Tanımlanması

Yüksek lisans Tezi

Sibel DAĞLI

ÖZET

Bu çalışmada, Nisan-Ekim 2017 tarihleri arasında Kahramanmaraş il merkezinde bulunan 35 caminin; depo sularından, şadırvan ve lavabo musluklarından su örnekleri, musluk başlıkları ve klima filtrelerinden ise sürüntü örnekleri olmak üzere toplam 230 örnek alınmış, *Legionella* cinsi bakteri varlığı açısından incelenmiştir ve serogrupları belirlenmiştir. İnkübasyon sonrası *Legionella* yönünden şüpheli koloniler Gram boyama yöntemiyle doğrulanmıştır. Ayrıca Kanlı Agar ve BCYE agara ekim yapıldıktan sonra %2-5 CO₂'li etüvde 35-37 °C'de 24-48 saat inkübasyon sonrasında identifikasyon yapılmıştır. Lateks aglütinasyon testi (OXOİD) ile *Legionella* kolonileri serotiplendirilmiştir. Alınan toplam 230 örnekten 6(%2.5)'sında *Legionella* kolonisi izole edilmiştir. İzole edilen 6 koloninin lateks aglütinasyon testi uygulanması sonucu 3 (% 1.3)'nün *L. pneumophila* serogrup 2-14 olduğu, 1 (%0.4)'inin *L. pneumophila* serogrup 1 olduğu, 2 (%0.8)'sinin ise *Legionella* spp. olduğu tespit edilmiştir. Toplu yaşam alanları olarak kullanılan camilerde musluk başlıklarında oluşan biyofilm tabakalarının arındırılarak *Legionella* cinsi bakteriler yönünden kontaminasyonun önlenmesi gerekmektedir. Ayrıca su dağıtım sistemlerinin dezenfeksiyon işlemleri sayesinde *Legionella* ile kontamine olmuş suların arındırılmasının toplum sağlığını koruyabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bakteri, identifikasyon, izolasyon, su, sürüntü

Sayfa Sayısı: 63

Danışman: Prof. Dr. Ekrem KİREÇCİ

Identification of *Legionella* Species Bacteria from Various Cooling Systems and Water Sources in Kahramanmaraş City Center

Master Thesis

DAĞLI, Sibel

ABSTRACT

In this study, a total 230 samples which were taken from mosques in Kahramanmaraş city center, in the period of April-December 2017, were analysed in terms of *Legionella* type bacteria presence and their serogroups were defined. The water samples were taken from the water tanks of those mosques fountains and sink spout. The swab samples were taken from the faucet knobs and from the filters of cooling systems of the mosques. After the incubation, the bacterium colonies, which were suspected in the presence of *Legionella*, were justified by Gram staining method. Besides an identification was made in %2-5 CO₂ incubator in 35-37 °C in 24-48 hours after culturing on Blood Agar and on BCYE medium. *Legionella* colonies were serotyped through latex agglutination (OXOID). 6 *Legionella* colonies taken from 230 samples were isolated. After applying latex agglutination test to 6 (%2.5) isolated colonies, it was defined that 3 (%1.3) of them were *Legionella pneumophilla* serogroup 2-14, 1 (%0.4) was *Legionella* serogroup 1 and 2 (%0.8) were *Legionella* spp. In the mosques used as collective living areas, the biofilm layers formed in the tap heads should be purified and contamination should be prevented in terms of bacteria of the genus *Legionella*. In addition, it was thought that the purification of the water contaminated with *Legionella* by water disinfection systems could protect public health.

Key words: Bacteria, identification, isolation, swab, water

Number of pages: 63

Consultant: Prof. Dr. Ekrem KİREÇCİ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım ve Tarihçe	3
2.2. Sınıflandırma	4
2.3. Mikrobiyolojik Özellikleri	5
2.4. <i>Legionella</i> Cinsi Bakterilerin Epidemiyolojisi.....	7
2.4.1. Ekoloji	7
2.4.2. İnfeksiyon Kaynağı	8
2.4.3. Bulaş Yolları	9
2.4.4. Prevalans	10
2.5. Virülans ve Patojenite.....	11
2.6. Klinik Belirtiler ve Bulgular	12
2.6.1. Lejyoner Hastalığı	12
2.6.2. Pontiac Ateşi	14
2.6.3. Nozokomiyal Salgınlar	14
2.7. Tedavi	15
2.8. Çevresel Örneklerde <i>Legionella</i> Türü Bakteri İzolasyon Yöntemleri	15
2.8.1. <i>Legionella</i> İzolasyon Aşamasında Kullanılan Besiyerleri	17
2.8.2. Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	17
2.9. <i>Legionella</i> Cinsi Bakterilerin Tür Tanısı ve Serogruplandırılması	18
2.9.1. Lateks Aglutinasyon Yöntemi	18
2.9.2. Hasta ve Çevreden İzole Edilen Suşlar Arasındaki İlişkiyi Belirleyen Testler	19
2.9.3. Direkt Floresan Antikor (DFA) Deneyi.....	19
2.10. Su Dağıtım Sistemlerinin Dezenfeksiyonu	19

2.10.1. Fiziksel Dezenfeksiyon Yöntemleri.....	20
2.10.1.1. Membran Filtrasyon	20
2.10.1.2. Termal Yöntem	20
2.10.1.3. Ultraviyole ışınları	20
2.10.2. Kimyasal Dezenfeksiyon Yöntemler	21
2.10.2.1. Serbest Klorlama.....	21
2.10.2.2. Bakır-Gümüş İzolasyonu	21
2.10.2.3. Monokloramin.....	21
2.11 Önceki Çalışmalar.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1 Gereç.....	30
3.1.1. Cam ve Plastik Malzemeler.....	30
3.1.2. Cihazlar	30
3.1.3. Besiyerleri.....	31
Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) Besiyeri.....	31
Kanlı Agar	32
3.1.4 Kimyasal Maddeler	33
Sitokrom Oksidaz Ayracı.....	33
Katalaz ayırıcı.....	33
Gram Boyama	33
3.1.5. <i>Legionella</i> Cinsi Bakterilerin Tür ve Serogrup Düzeyinde Tanımlanması.....	35
3.2. Yöntem	36
3.2.1. Su Örneklerinin Alınması.....	36
3.2.2. Sürüntü Örneklerinin Alınması.....	37
3.2.3. Su ve Sürüntü Örneklerinin Kültürü ve Sonuçlarının Değerlendirilmesi	37
4. BULGULAR	40
Serolojik Bulgular	41

5. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
Kaynakça	49



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

BCYE: Buffered charcoal yeast extract agar (Tamponlanmış kömür ve maya özlü agar)

GVPC agar: Selektif katkılı Glisin, Vankomisin, Polimiksin B, Sikloheksimid

DGVP: Dye Glycine Vancomycin Polymyxin B

DFA: Direkt Floresan Antikor

CDC: Centers for Disease Control

PAV: Polymyxin B-anisomycin Vancomycin

FITC: Fluorescein isothiocyanate

L.pneumophila: *Legionella pneumophila*

LLAP: *Legionella*-like Amoebae Pathogen (*Legionella* benzeri Amoebae patojen)

DGVP: Dye-Glycine-Vancomycin-Polymyxin B

PCR: Polymerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)

Mip: Macrophage infectivity potentiator

ACES: N-2-asetamido-2-aminoetansülfonik asit

DNA: Deoksiribonükleik asit

Ig: İmmünoglobulin

spp: Species pulural

HCL: Hidroklorik asit

KCL: Potasyum klorür

UV: Ultraviyole

µm: Mikrometre

rpm: rotation per munit

°C: Derece santigrat

IU: Uluslararası ünite

1. GİRİŞ

Legionella cinsi bakteriler solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabilen aerob, Gram negatif basillerdir. İlk defa 1976 yılında Amerika Birleşik Devletinde yer alan Philadelphia şehrindeki Statford Otel'inde, Amerikan Lejyoner askerleri için gerçekleşen toplantı sonunda başgösteren pnömoni salgını ile ortaya çıkmıştır (1).

Legionella cinsi yaklaşık olarak 50 tür ve 70 serotip içermekte, 20 türün ise insanda enfeksiyona sebep olduğu belirtilmektedir (1). *Legionella* cinsine ait türlerden *L. pneumophila* bakterisinin 16 serotipi olmakta, bunların içerisinde en çok identifiye edilen *L. pneumophila* serogrup 1'dir. Avrupa ve Amerika'da Lejyoner hastalığının yaklaşık %95'inden *L. pneumophila* bakterisi, yaklaşık %5'inden ise *L. pneumophila* dışındaki suşlar, özellikle de *L. micdadei* ve *L. longbeachae* sorumlu tutulmaktadır (1,3,4).

Legionella türlerinin yapay su sistemleri içerisinde kolonize olmasında; suyun durağanlığı, sıcaklığı, kommensal mikroflora, sedimentlerin birikimi ve biyofilm tabakasının oluşması en önemli rol oynamaktadır. *Legionella* spp.; akarsular, nehirler, göller, göletler ve termal havuzlar gibi doğal su çevrelerinde ve nemli toprak kaynaklarında çok yaygın olarak bulunmaktadır. Bu spesifik mikroorganizmalar özellikle nemli ortamlarda, sıcaklık seviyesinin 0-68 °C ve pH seviyesinin ise 5-8.5 aralığında olmasıyla uzun süre canlılığını koruyarak hayatta kalabilmektedirler. Klora yüksek direnç göstererek çeşitli su kaynak sistemlerine girebilirler ve kaplıcaların bulunduğu bölgelerde, soğutma kulelerinde bulunan havalandırma sistemlerinde, sıcak su sistemlerinde, duş başlıkları, musluklar, jakuzilerde ve respiratuvar ventilatörler sistemlerinde canlılığını koruyarak üreyebilirler (2,3,5). Bu çeşitli alanlarda sıcak ve soğuk su sistemlerindeki biyofilm tabakasına yerleşip üreyebilmelerinin yanısıra serbest yaşayan protozoaların hücre içi paraziti olarak da yaşarlar. Su dağıtım sistemlerinde özellikle sistemin durağan bölgelerinde bu mikroorganizmaların yerleşimi için önemli primer rezervuar olarak kabul edilmiştir (6).

İnsanlarda enfeksiyona yol açan *Legionella* türlerinin bulaş yolları; aerosolleşme, aspirasyon veya entübasyon sırasında direkt pulmoner sisteme giriş olmak üzere birçok şekilde gerçekleşebilir. *Legionella* ile ilgili yapılan çalışmalarda insandan insana bulaş bildirilmemektedir (7,8).

L. pneumophila, insanlarda Lejyoner hastalığı (pnömonili ateşli hastalık), Pontiac ateşi (pnömonisiz ateşli hastalık) ve asemptomatik enfeksiyonlar olarak kendini göstermektedir (9). Özellikle; sigara kullanımı, kronik akciğer hastalığı, kronik kalp hastalığı, ileri yaşta olma ve immünitinin baskılanmış olması başta Lejyoner hastalığı olmak üzere diğer pnömoniler için başlıca risk faktörleridir. Ayrıca aşırı alkol tüketimi, böbrek yetmezliği, hematolojik malignensiler, diyabet ve erkek cinsiyet de bu pnömoni enfeksiyonları için risk faktörleri olarak belirtilmektedir (6).

Pontiak Ateşi; akciğer tutulumu semptomları olmadan grip benzeri belirtiler ile seyreden ve sonunda kendi kendine düzelen klinik görüntü oluşturmaktadır. Pontiak Ateşi; yüksek ateş seviyesi, baş ağrısı, halsizlik ve yorgunluk belirtileriyle karakterize olan bu enfeksiyon hafif düzeyli olur ve tedaviye ihtiyaç duymadan 2-5 gün aralığında bu hastalıktan kurtulmak mümkündür (10).

Avrupa *Legionella* Enfeksiyonları Çalışma Grubu (European Working Group for *Legionella* Infections)'nun veri sonuçlarına göre Fransa, İspanya, İtalya ve Türkiye seyahat ile ilişkili Lejyoner hastalığının yoğun tespit edildiği ülkeler olduğu belirtilmektedir (11).

Genel olarak tüm yaşam alanlarında bulunan *Legionella* spp.'nin primer rezervuar kaynağı olarak; su sistemleri, duş başlıkları, musluklar, respiratuvar ventilatörler, nazogastrik tüpler, nemlendiriciler ve soğutma kuleleri gösterilmektedir (5,8). *Legionella* spp.'nin tespit edildiği rezervuarlardan kontrolü yapılarak ve eliminasyon yoluyla önlenilecek bir enfeksiyon hastalığı olduğu düşünülmektedir (5). *Legionella* açısından riskli bölgelerin bulunduğu alanlarda rutin olarak çevre kültürlerinin yapılıp incelenmesi, kontamine su sistemlerinin dekontaminasyonu, kontamine olmuş tesisatların dekontaminasyonu ve bakım çalışmaları ile *Legionella* salgınlarının önüne geçilebileceği belirtilmektedir (1).

Çalışmamızda Kahramanmaraş il merkezinde bulunan cami ve otellere ait depo suları, musluk suları, soğutma sistemleri, musluk ve duş başlıklarında *Legionella* türlerinin varlığının saptanması ile serogruplarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım ve Tarihçe

Legionella pneumophila ilk olarak 1976 yılının Temmuz ayında, Amerika Birleşik Devletlerindeki Philadelphia şehrinde gerçekleşen Oddfellow adlı askeri ordu toplantısında ortaya çıkmıştır. Bu toplantıya katılan Amerikan lejyonerlerinden 189 kişide pnömoni salgını gerçekleşmiş ve 29 kişi *Legionella* salgınından dolayı hayatını kaybetmiştir (6,12). Yaklaşık 6 ay sonra, salgının etkenini araştırmak amacıyla Centers for Disease Control and Prevention (CDC)'den Joseph McDade ve Charles Shepard adlı iki araştırmacı, bir müşkülpesent Gram negatif basil olan etiyolojik ajanı keşfettiklerini duyurmuşlardır (13). Bu yeni keşfedilen bakteri *Legionellaceae* ailesinin, *Legionella* cinsinin ve *pneumophila* (akciğerleri seven) türüne dahil edilmiştir (14).

Ateşli solunum yolu enfeksiyonu belirtileri bulunan bir hastadan alınan kanın kobaya inokülasyonu sonucu 1947 yılında izole edilen ve o yıllarda tespit edilmemiş olan bir bakterinin, 30 yıl sonra yapılan çeşitli araştırmalar sayesinde *L. pneumophila* kimliğine sahip olduğu tespit edilmiştir (6).

Etiyolojisi kesinleştirilememiş bir pnömonisiz ateşli hastalık salgınının da *Legionella* bakterisinin sebep olduğu bulunmuş ve bu *Legionella* hastalığının ilk meydana geldiği bölge olan A.B.D. 'nin Michigan eyaletinde yer alan Pontiac şehrinden dolayı Pontiac ateşi adı verilmiştir (5).

L. pneumophila'nın tanımlanmasından iki yıl sonra 1978 yılında farklı bir tür olan, *L. micdadei* tanımlanmıştır (15). 1978 yılından sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda üreme, zenginleştirme ve selektif özelliğe sahip besiyerlerinin bulunması sonucu klinik ve çevre çalışmaları ile çok sayıda *Legionella* türü keşfedilmiştir.

Ülkemizde ilk olarak 1994 yılında Aydın ilindeki Kuşadası bölgesinde bir turistik tesiste 17 olgu, 3 yıl sonra 1997 yılında İstanbul ilinde turistik bir tesiste 16 olgu olmak üzere toplamda 23 olgu ile iki büyük otel kaynaklı Lejyoner Hastalığı salgını tespit edilmiştir (11).

2.2. Sınıflandırma

DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarıyla; yani DNA havuzlarındaki sıralamaların genetik olarak yakınlıklarını ölçmek amacıyla yapılan çalışmalar 1976 yılındaki pnömoni salgınına yol açan bakterinin yeni bir tür olarak sınıflandırılmasına imkan sağlamıştır. Daha sonra 1979 yılında Brenner, Steigerwalt ve McDade yaptıkları çalışma ile Philadelphia'da ortaya çıkan Lejyoner hastalığı enfeksiyon etkeni olan *L. pneumophila* bakterisini *Legionellaceae* familyasına dahil etmiştir (16,17).

Bazı araştırmacılar *Legionellaceae* familyası içinde *Tatlockia* ve *Fluoribacter* adı altında tek cins isimlerinin kullanılmasını ifade etmiş olsalar da, yine de yapılan birçok genomik araştırma çalışmalarında *Legionellaceae* familyasının tek cins olduğu kabul edilmiştir (18).

Amipler içerisinde canlılığını devam ettirerek üreyebilen ve bunun aksine rutin *Legionella* besiyerlerinde üretilemeyen *Legionella*-benzeri bir grup bakteri tanımlanmış ve *Legionella*-like Amoebae Pathogen (LLAP) olarak isimlendirilmiştir. LLAP'lerden *L. lytica*'nın insanlarda enfeksiyon oluşturabildiği belirtilmiştir ve 4 adet LLAP suşunun 4 farklı *Legionella* türü olduğu tespit edilmiştir (1,18).

Günümüzde *Legionellaceae* ailesi, *Legionella* olarak adlandırılan yalnız bir cins ve bu *Legionella* cinsine ait 50 alt tür ve 70 farklı serogrup içermektedir. *L. pneumophila* 16 farklı serogruptan oluşmaktadır (19).

L. pneumophila Lejyoner hastalığının %90'dan fazlasında en önemli etkidir (18). İnsanda oluşan enfeksiyonların büyük çoğunluğunda *L. pneumophila* serogrup 1, serogrup 4 ve serogrup 6 en çok tanımlanan etkenlerdir (9). Ayrıca *Legionella*'nın *L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. dumoffi*, *L. feeli*, *L. longbeachae* ve diğer türleri de benzer şekilde *L. pneumophila* gibi patojenik özelliktedir (8).

2.3. Mikrobiyolojik Özellikleri

Legionellaceae ailesine ait alt üyelerin özellikleri genel olarak; 0.3-0.9 µm eninde, 2-20 µm uzunluğunda, aerop, sporsuz, kapsülsüz, Gram negatif kokobasillerdir. Dokudan izole edilen örneklerde ve klinikten izole edilen örneklerde, araştırmalar sonucu mikroorganizmalar 1-2 µm boyunda kokobasil şeklinde olduğu belirtilmiştir. Bazı özel besiyerlerinde üredikten sonra uzun filamantöz yapıları gözlemlenebilir (6). Polar veya lateral kutupsal flajelleri yardımıyla hareket özelliğine sahip kokobasillerdir (1).

Legionellaceae familyasında bulunan bakteriler; soluk boyanan, hareketli, pleomorfik görünümde ve çomak şeklinde görünüm taşırlar. Gram negatif olarak tanımlanmalarına karşın Gram boyama yöntemi ile güç boyanırlar (20,21). Gram boyama aşamasında kullanılan bazik fuksin safranine kıyasla daha iyi oranda boyama gerçekleşir. Gimenez boyası kullanımı sayesinde ise bu mikroorganizmalar Gram boyama kadar kadar hızlı ve yeterli etkiye sahiptirler (6).

Bu bakteriler, diğer bakterilerin üreyip gelişebilmeleri için gerekli besin ihtiyacı açısından müşkülpesenttirler ve standart içeriğe sahip besiyerlerinde üremekte zorlanırlar. Bu mikroorganizmanın izolasyon amaçlı üremesi için kullanılan primer besiyeri pH 6.9 olan tamponlanmış kömür ekstraktlı ve maya ekstrakt agar içeren selektif besiyeri özelliğine sahip Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE)'dir. İçerisinde mevcut olan L-sistein, *Legionella* kültüründe önemli bir supplementtir. İçerikte bulunan keto asitler ve demir (Fe) iyonları, üreme için önemli uyarıcılardır. Maya ekstraktındaki pürin ve pirimidin, özellikleri bakımından aktif maddelerdir (6). Aktif kömür, yağ asitlerini ve oksijen radikallerini absorbe edip böylece toksik etkisini yok ederek, sisteinin de oksidasyonunu engellemektedir. BCYE besiyerine α-ketoglutarik asit ilavesi kullanılmasının nedeninin α-ketoglutarik asitin oksidatif enzimlerin üretimini dengeleyerek *Legionella*'nın üreme oranını arttırmak olduğu belirtilmektedir (6).

Legionella türleri, en iyi üreme seviyesi 35 °C'de BCYE agara inokülasyonu sonrasında minimum 2-5 gün içerisinde üreme gözlenebilir. Yapılan çalışmalara göre daha az olarak *Legionella* türlerinin inokülasyon sonrası inkübasyon süresini 10 güne kadar uzayabilmektedir (5). *Legionella* türlerinin katı besiyerinde üremesinde özellikle nem oranının artırılması önemlidir. Inkübasyon işleminin yaklaşık olarak %2-5 CO₂'li ortamda gerçekleştirilmesi, bazı *Legionella* türlerinin üremesini kolaylaştırır da bunun aksine farklı tür bakteriler için bu durum uygun görülmemektedir (18).

BCYE besiyerinde, inokülasyon sonucunda koloniler renk olarak gri-beyaz veya nadir olarak mavi-yeşil, konveks şeklinde, yapışkansı özelliğe sahip, yaklaşık standart boyutu 2-4 mm çapında gözlenmektedir. Koloniler mikroskopta incelendiğinde genç koloni yapısında; orta kısmı buzlu cam görünümünde, parlak gri renge ve granüler özellikte gözlenmektedir. İnokülasyonu yapılmış selektif özellikteki besiyerlerinin günlük rutin olarak incelenmesi gerekir. Çünkü kolonilerin eskimesiyle karakteristik özelliklerinin değişmesi veya kaybetmesiyle, diğer farklı türdeki bakterilere benzerlik gösterebileceğinden dolayı karıştırılabilmektedir (9).

Legionella cinsine ait bakterilerin yapılan çalışmalarda hücre duvar yapısı elektron mikroskobu aracılığıyla incelendiğinde standart Gram negatif bakteri özelliğine sahip hücre duvarı yapısı özelliğinde olduğu gözlenir. *L. pneumophila* hücre duvarında, ince yapıda peptidoglikan ve lipopolisakkarit tabakasının önemli yapısı olan diaminopimelik asit ve 2-keto-3 deoksioktanat bulunur. Sitoplazmasında ise Sudan Black B ile boyanan polibetahidroksi-butirat granülleri bulunmaktadır (22,23).

Legionella cinsi bakterilerinin yağ asit yapıları, standart özellikteki genel Gram negatif bakterilerin yağ asit yapısından farklılık gösterir. Bu bakteri türünün hücrelerinde büyük oranda dallanmış yağ asiti zincirleri ve düşük oranda ester bağlarıyla bağlı hidroksiasitler vardır. Karmaşık yapı özelliğine sahip bu yağ asiti zincirlerinin en önemli faktörü bakterileri sıcak ortamlarda zararlı seviyede ısıdan korunmasını sağlar (24).

Legionella 'lar üreaz negatif, katalaz pozitif ve oksidaz negatif olarak reaksiyon verirler ve nitratı nitrite indirgerler (25). Ayrıca karbonhidratları oksidasyon veya fermantasyon aracılığıyla parçalayamazlar, nonfermentatif özelliktedirler. En önemli temel enerji kaynağı olarak aminoasitleri kullanırlar (26,27).

2.4. *Legionella* Cinsi Bakterilerin Epidemiyolojisi

2.4.1. Ekoloji

Legionella spp. türüne ait bakterilerin epidemiyolojisi ve ekolojisinin bilinmesi, oluşabilecek birçok salgın olgularının önüne geçilebilmesi bakımından önemli değere sahiptir.

Legionella spp. familyası içerisinde bulunan bakterilerin temel olarak doğal ekolojik yaşam alanı su ve topraklardır (28,29). Nehirler, göller, termal sular, sıcak ve soğuk su kaynakları, akarsular ve nemli alanlar *Legionella* türü bakterilerin yaşam alanlarıdır. Bu familyadaki bakteriler için uygun sıcaklık seviyesi 0-68 °C aralığında, pH seviyesi 5.0-8.5 aralığında ve çözülmüş oksijen içerik oranı 0.2-15.0 mg/L aralığında farklılık gösterebilen geniş spektruma sahiptirler ve bu bölgelerde bu şartlar doğrultusunda yıllarca canlılığını koruyabilirler (30,31,32).

Ekosistemde doğal alanlarda yaşayan *Legionella* spp. ailesi; akuatik ve saprofit mikroorganizmalardır. Bu bakterilerin doğada üreme, gelişim ve yaşamını sürdürmelerinde önemli etken sayılabilecek olan çevresel faktör protozoonlardır. Amipler, kamçılı protozoonlar ve mavi-yeşil alglerde, hücre içi paraziti olarak hücre içinde gelişirler ve belirli bir olgunluk seviyesine ulaşıncaya, bulunduğu hücre içerisinde lizise uğramasına sebep olurlar (33).

Zorunlu hücre içi paraziti olarak bilinen *Legionella* spp. bakteri türlerinin suda ve doğal su sistemlerinde de meydana gelen biyofilm tabakası içerisinde canlılığını koruyarak protozoonlar ve alglerin vakuollerinde yaşamlarını sürdürerek üredikleri ve buldukları hücrelerin ölmesi ile suya geçtikleri ve aerosol yollarla insanlara bulaştığı belirlenmiştir (34,35).

Doğal su sistemlerinde düşük konsantrasyonlarda bulunan bu bakterilerin az bir kısmı şebeke suyuna dahil olur. Fakat yapay su sistemlerinde, suyun durağan olduğu bölgelerde üremeye elverişli ortam bularak yerleşir ve çoğalırlar. Klorlanmaya yüksek direnç gösterme özelliğinden dolayı, yaygın olarak su depolarının dip kısmında bulunan çöküntüde, kommensal bulunan flora ile simbiyotik yaşam ile yaşamını sürdürürler. Yapay su sistemlerinde bulunan kommensal mikroorganizmaların ortama saldığı polimerik maddelerin yanısıra birçok mikroorganizmalardan oluşan biyofilm tabakalarında *Legionella* spp.'nin üremesi ve canlılığını korumasında önemli etkenlerden olduğu çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir (33,39,40).

Bunun aksine ortama ilave edilmiş veya herhangi bir yolla ortamda var olmuş fenoller, iodoformlar, dörtlü amonyum bileşikleri, glutaraldehit, formalin kalsiyum hipklorit ve etanol *Legionella* spp. bakterilerinin üremesini engeller (24,36).

Legionella spp. türüne ait bakteriler, kommensal ortamdaki biyofilm tabakasında canlılığını korumayı sürdürürken bulunduğu ortamdaki diğer mikroorganizmalar ile doğal olarak etkileşim içerisinde. Bu etkileşim sırasında bazı mikroorganizmalar *Legionella* spp. türü bakterilerin yaşamında ve üremesinde pozitif etkiye sahip iken, bir kısmında yaşamını ve üremesini negatif yönde etkilemektedir. Örneğin; *Fischerella*, yeşil algler ve siyanobakteriler *Legionella* spp. türlerinin üremesini pozitif yönde etki göstermektedir (37,38,39). Fakat *Streptococcus* ve *Bacillus* bakteri türlerinin ise *Legionella* spp. türü bakterilerin üremesinde negatif etki göstermesi kaynaklarda belirtilmiştir (39).

2.4.2. İnfeksiyon Kaynağı

Doğal su kaynaklarında suyun akışkanlığından dolayı *L. pneumophila* kolonizasyon olasılığı oldukça düşük orandadır. Fakat *Legionella*'lar insan yapımı yapay su sistemlerine taşındıklarında yaşam koşullarının uygunluk oranı arttığından ayrıca doğal su sistemlerine kıyasla suyun durağan olmasından dolayı üreyebilirler (41). Yapay su sistemlerinde *L. pneumophila* varlığı insanlar için önemli bir sağlık riski taşımaktadır.

Legionella spp. türlerinin en çok tespit edildiği ve uygun yaşam koşullarını içeren alanlar şöyle sıralanabilir;

- ✓ Merkezi klima ve havalandırma sistemleri

- ✓ Sıcak su tankları
- ✓ Soğutma kuleleri
- ✓ Su sertliğini kırma tankları
- ✓ Duş başlıkları ve sıcak su muslukları
- ✓ Termal banyolar, çamurlar ve kaplıcalar
- ✓ Hastane de kullanılan solunum amaçlı tedavi cihazları
- ✓ Süs havuzu ve bahçe fiskiyeleri
- ✓ Yangın söndürme işleminde kullanılan springler
- ✓ Evaporatörler ve nebulizatörler (40,42,43).

Soğutma kuleleri ve merkezi klima sistemlerinin çalışma sistemi direkt suyla ısıyı ortamdaki atmosfere vermektedir. Soğutma kuleleri ve merkezi klimalardan transfer edilen hava akımı aerosol özelliktedir. Kontamine olmuş aerosollerin bağışık sistemi baskılanmış bireylerde mikroorganizmanın enfekte olduğu düşünölmektedir (6).

Pontiac ateş hastalığının infeksiyon kaynağı olarak merkezi klima sistemleri, soğutma kuleleri, klimalar ve jakuzilerde bulunan etkenin aerosolleşmesine bağılı olduğu tahmin edilmektedir (6). Özellikle soğutma kulelerinin Lejyoner hastalığının infeksiyon kaynağı olduğu iddia edilen birçok epidemiyolojik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Birçok *Legionella* salgınında soğut su sistemleri dezenfekte edilmesine rağmen Lejyoner hastalığı belirtilerinde değışiklik olmadığı bildirilmiştir. Bu araştırmalar ışığında infeksiyona neden olan bu mikroorganizmaların su dağıtım sistemlerinde de olduğu düşünölmektedir (6).

Yapılan araştırmalarda *Leginella* spp. ile kontamine olmuş hastanelerdeki su dağıtım sistemleri ile nozokomiyal infeksiyon olguları arasında epidemiyolojik açıdan anlamlı olduğu belirtilmiştir. Moleküler parmakizinde kullanılan “fingerprinting” çalışması ile *L. pneumophila*'nın alt türlerinin genotipleri belirlenerek musluk suyu kaynaklarının mikroorganizmanın yaşam alanı olduğu belirtilmiştir (6).

2.4.3. Bulaş Yolları

Legionella spp. türü bakterilerinin genel olarak insanlara bulaşması aerosol, aspirasyon veya entübasyon sırasında insanlar tarafından kontamine ortamın solunmasıyla oluşmakta ve direkt pulmoner sistem ile gerçekleşmektedir (44). Aerosolizasyon ile gerçekleşen bulaş yoluna

en değerli örnek 1968 yılındaki merkezi klima sisteminin *Legionella* ile kontaminasyonuna bağlı olarak Pontiac ateşi salgınının gerçekleşmesidir. Salgının ilk meydana geldiği bölge olan A.B.D.'nin Michigan eyaletinde yer alan Pontiac şehrinden dolayı hastalığa Pontiac ateşi adı verilmiştir. Kontamine olmuş merkezi klima sisteminin hava ile bağlantılı olarak ortamdaki hava da kontamine olmuştur bu ortamda bulundurulan kobaylar ile yapılan deneyde kobaylarında bu salgına maruz kaldığı çalışmalarda belirtilmiştir. Bu kobaylardan izolasyon sonucu salgının sebebinin *L. pneumophila* serogrup 1 olduğu tespit edilmiştir (45).

Araştırmalar doğrultusunda, soğutma kuleleri ve klimalar tarafından ortama yayılan aerosoller içerisinde hava akımları ile birlikte *Legionella* spp. ve diğer tüm mikroorganizmaların 1.6 km'den fazla hızla ortamlara salındığı belirtilmiştir. *Legionella* bulaşında aerosolizasyon için partiküller 1-5 µm boyutunda olmalıdır. Bu partiküller de etken 2 saat kadar canlılığını korumaktadır (46,47,48).

Hastanelerde kullanılan; özelliklede solunum sistemi ekipmanları *L. pneumophila* ile kontamine olmuş musluk suları ile temizlenmesi, sonrasında bu ekipmanların hastalarda tekrar kullanılması direkt aspirasyon aracılığıyla nozokomiyal Lejyoner hastalığına yakalanma riskini arttırmaktadır (16). Deri lezyonlarında *L. pneumophila* ile kontamine suyun derinin emmesi sonucu enfeksiyon oluşabilmektedir (45,47,48). Nazogastrik tüplerin kontamine suyun mikroaspirasyonu sonucu nozokomiyal Lejyoner hastalığına sebep olduğu iki ayrı prospektif çalışmada belirtilmiştir (49). Bazı çalışmalarda ise toprağın kazılması sebebiyle oluşabilecek aerosolizasyondan bulaşma olabileceği iddia edilmiştir (6).

2.4.4. Prevalans

Legionellozis prevalans oranı, su kaynaklarının *Legionella* ile kontaminasyon olasılığına, su ile temas eden bireylerin bağışıklık sistemi ile temasın sıklık derecesi gibi faktörler yakından ilişkilidir. Ayrıca enfeksiyonun tanısı; laboratuvarda kullanılması gereken özel testlerin enfekte hastalarda uygulanmasıyla mümkün olmaktadır (6). Bu doğrultuda yapılan çalışmalar; bu özel testlerin rutin olarak kullanılmasından sonra daha önce şüphe duyulmamış olguların da tespit edildiği kanıtlanmıştır. Legionellozis birçok farklı ülkelerdeki araştırmacıların sonuçlarında belgelenmesine rağmen, epidemilere ve sporadik olguların sonuçlarına bağlı olarak morbidite ve mortalite oranlarının halk sağlığı istatistiklerinde kayıt

altına alınamamıştır. Lejyoner hastalığı ve Pontiac ateşi insidansını doğru bir şekilde saptamak için daha iyi sörveyans programlarına ihtiyaç duyulmaktadır (16).

Toplum kaynaklı pnömonilerde, *L. pneumophila* etkeni ile *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, bakterileri en sık rastlanılan bakteriler olarak değerlendirilmektedir (9).

Bakteriyel pnömoni olgularında *Legionella* etkenlerinin %1-5 aralığında olduğu düşünülmektedir. CDC her yıl ABD’de 10.000-20.000 aralığında Lejyoner hastalığına ait olgu tahmini yapmaktadır (50). Genel olarak popülasyon oranında Pontiac ateşinin insidansı bilinmemektedir (16).

Legionella enfeksiyonlarında; %75 oranı ile *L. pneumophila* serogrup 1, %20 oranı ile *L. pneumophila* serogrup 4-6, %5 oranında ise diğer *Legionella* türleri sorumlu tutulmaktadır. *Legionella* cinsinin ve serogruplarının dağılım oranı tanı yöntemlerini özgünlüğünü ve Legionellozis prevalansının değişkenlik göstermesine neden olmaktadır (51,52).

2.5. Virülans ve Patojenite

Legionella spp., serbest yaşayan amiplerin bazı türlerinde, silialı protozoalarda ve biofilm içinde yaşamını sürdürüp üreyebilme yeteneğine sahiptir. *Legionella* türleri bu yeteneği ile farklı çevre koşullarında da yaşamını sürdürebilmektedir. *Legionella* bakterileri fakültatif hücre içi paraziti olarak tanımlanır. İnsan hücreleri (fibroblast, makrofaj, mononükleer hücreler) içinde çoğalabilmektedir. *Legionella* serogruplarının büyük kısmı yapay su sistemlerinde kolonize olup yaşamını sürdürebilmesine rağmen, yalnızca birkaç serogrubu insanları enfekte edebilme yeteneğine sahiptir (53-56).

Lejyoner hastalığı, bilindiği gibi inhalasyon veya aspirasyon yolu ile gerçekleşmektedir. Solunum yollarında bulunan, önemli bariyer görevi yapan silialı epitel hücrelerine adhere olan bakterileri, alveoler makrofajlar tarafından fagosite edilir (45). Konak savunmasından sorumlu silialı epitel hücreleri sigara ve alkol kullanımı, kronik akciğer hastalığı, kronik kardiyovasküler hastalıklar gibi immünitesi baskılanmış bireylerde koruma bariyerleri zarar görerek infeksiyon riski oluşturmaktadır (55,56).

L. pneumophila'ya özgü 24 kDa'luk dış zar proteini bulunmakta ve "Macrophage infectivity potentiator" (Mip) olarak adlandırılmaktadır. Mip proteini hücrelerin enfekte olmasında yardımcı olur. Fosfolipaz C, asit fosfataz, protein kinazlar ve süperoksit dismutaz gibi enzimleri ise *L. pneumophila* bakterisinin enfekte olduğu hücre içerisinde yaşamasını kolaylaştırmaktadır. Ayrıca bu bakterilerde bulunan proteazlar ise akciğer hasarına sebep olmaktadır (33,54).

Akciğer dokusunda normal şartlarda inhalasyon ile enfekte olan bakteriler, alveolar makrofaj fagositozu ile engellemekte fakat patojen *Legionella* suşları Mip proteini sayesinde fagozom-lizozom yapısını bloke ederek makrofaj içinde üremelerini sürdürürler. Bunun sonucunda makrofajı patlatarak mononükleer ve polimorfnükleer fagositlerde aynı döngüyü gerçekleştirmek amacıyla ortama yayılırlar (40,45).

Yapılan birçok in vitro araştırmada, konak savunmasında humoral bağışıklığın ikincil rol oynadığını fikri savunulmaktadır. Bu patojene karşı gelişen antikorlar *L. pneumophila*'nın komplemanla öldürülmesine öncülük etmez, sadece fagositlerce öldürülmesini kolaylaştırır. Ancak monositler ve alveolar makrofajlar içinde bakterinin çoğalmasını inhibe edemez. Aynı zamanda Lejyoner hastalığı olan bireylerde oluşan enfeksiyonun 2-10 gün içerisinde serum örnekleri incelendiğinde, öncelikle IgM ardından IgG anti-*Legionella* spesifik antikorları tespit edilebilir (6).

2.6. Klinik Belirtiler ve Bulgular

L. pneumophila cinsi bakteriler bireylerde, Lejyoner hastalığı (pnömonili ateşli hastalık), Pontiac ateşi (nonpnömonik ateşli hastalık), asemptomatik enfeksiyonlar solunum sistemi enfeksiyonu etkeni olarak kendini göstermektedir.

2.6.1. Lejyoner Hastalığı

Bilinen ilk Lejyoner hastalığı salgını 1965'de Washington DC'deki bir psikiyatri hastanesinde 81 hastada üst solunum yolu enfeksiyonu tanımlanmıştır ve bu 81 kişiden 15 kişi Lejyoner hastalığı sebebiyle hayatını kaybetmiştir (6). O yıllarda henüz tanı yöntemlerinin gelişmemiş olmasından dolayı ölüm sebebi tam olarak anlaşılamamıştır.

Lejyoner hastalığı, *Legionella* infeksiyonları içerisinde en çok görülen önemli bir klinik tablodur. Lejyoner infeksiyonlarında salgınlar üç tipte görülmektedir;

- 1) Sporadik olgular, toplumda en yaygın olanıdır,
- 2) Epidemik salgınlar kısa süreli ve düşük atak hızı ile belirir,
- 3) Nozokomiyal salgınlar (hastane kökenli) ise immünitesi zayıf hastalarda görülmektedir (9).

Bu hastalık için konakta bakterinin kuluçka süresi 2-10 gün arasındadır. İlk belirtisi kuru öksürük ile atipik pnömoni tablosu sonucu, *Mycoplasma pneumoniae* ve *Chlamydia pneumoniae* infeksiyon etkenlerinden yalnızca özel tanı yöntemiyle ayırmak mümkündür. Pulmoner infiltrasyonun hızlı gelişimi ve diğer akciğere yayılım, diğer Gram negatif basil pnömonilerini şüphelendirilse de, geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aminoglikozitlere yanıt alınmamış olması Lejyoner hastalık sonuçlarına ulaştırmaktadır (57,58).

Hastalık çoğunlukla pnömonik formda kendini gösterir. İnfeksiyonun ilk haftalarında ateş, halsizlik, kas ağrısı, iştahsızlık gibi belirtiler görülür. Ateş hastaların çoğunda görülür ve hastaların %20'sinde 40 °C'nin üstünde seyreder. Öksürük ilk safhalarda hafiftir. Nadir de olsa balgamda kan gözlenebilir. Vakaların %25-40'ında sulu diyare, bulantı, kusma ve abdominal ağrı belirtileri vardır. Baş ağrısı ve mental bozukluk da sık görülen nörolojik belirtilerdir. Yalnızca akciğer grafisi bulgusuna bakılarak Lejyoner hastalığı diğer pnömoni infeksiyonlarından ayırt etmek güçtür. Fakat Lejyoner hastalığında beliren normal dışı karaciğer fonksiyonu, hematüri, hiponatremi ve kan anormallikleri diğer pnömonilerden ayırt etmekte yardımcı faktörlerdir (45,54,59,60). Klinik tablosu pnömoni ile sonuçlanan Lejyoner hastalığı, T lenfosit fonksiyon bozukluğu sonucu immünitenin baskılanmasıyla kronik akciğer hastalığı olanlarda, cerrahi uygulananlarda, transplantasyonlularda, kanserli hastalarda, diyabetlilerde, alkol ve sigara bağımlısı 40-70 yaş arası bireylerde en fazla izole edilen risk gruplarıdır (60).

Lejyoner hastalığına ait insidans; yapay su sistemlerinin *Legionella* ile kontaminasyon olasılığına, kontamine olmuş su ile temas eden bireyin duyarlılık seviyesine ve etken mikroorganizmanın uygun koşullar yaratıp organizmaya giriş konsantrasyonuna göre değişiklik gösterir. Laboratuvarda kullanılan rutin tanı yöntemlerinin eksikliğinden dolayı *Legionella* infeksiyonlarının bilinenden çok daha fazla olabileceği düşünülmektedir (61).

Lejyoner hastalığının sonucunda mortalite oranı yaklaşık %15-30'dur. Olguların büyük çoğunluğu *L. pneumophila* serogrup 1 sorumlu tutulmaktadır. Serogrup 4, 6 ve *L. micdadei*'de klinik enfeksiyonlarda diğer *Legionella* spp.'lere göre daha sık rastlanmaktadır (9).

2.6.2. Pontiac Ateşi

L. pneumophila enfeksiyonunun nonpnömonik seyirde kendisini gösterir. 1968 yılında A.B.D. 'nin Michigan eyaletinde yer alan Pontiac şehrinde görülen halk sağlığı bölümündeki salgından dolayı 'Pontiac Ateşi' adı verilmiştir (8).

Sağlıklı bireylerin infekte olmasıyla; akut, gribal enfeksiyon şeklinde belirir. İnkübasyon süresi yaklaşık 24-48 saat aralığındadır. Çok nadir de olsa inkübasyon süresi birkaç saat olarak gözlenebilir. Öncesinde sağlıklı olan kişilerde, 2-5 gün süren, ateş, baş ağrısı, halsizlik, nonproduktif öksürük ve bulantı-kusma ile seyredilen ve en önemlisi de yaklaşık bir haftada kendiliğinden iyileşen bir hastalıktır. Akciğerde radyolojik bulgular gözlenmez ve yalnızca semptomatik tedavi yeterlidir ancak antibiyotik tedavisi anlamsızdır (6,9). Genel popülasyondaki insidansı bilinmemektedir. Genellikle etiyojisinden *L. pneumophila* sorumlu tutulmuştur.

2.6.3. Nozokomiyal Salgınlar

Kısaca hastane kaynaklı *Legionella* spp. enfeksiyonu olarak tanımlanabilir. Hastaneler *Legionella* enfeksiyonlarının oluşması için ideal ortamlardır. Su sistemlerinin eski ve kompleks oluşu, dolaşımdaki suyun sıcaklığının hastalarda ve personelde oluşabilecek yanık vakalarının önlenmesi için düşük derecelerde tutulması gibi pek çok faktör, özellikle yüksek risk grubundaki kişilerde nozokomiyal enfeksiyonlara zemin hazırlamaktadır (62). Hastanelerin su dağıtım sistemlerinin bu bakteri ile kontamine olmasıyla nozokomiyal enfeksiyon olguları arasında anlamlı bağlantı kurulmuştur (6).

İmmünesi zayıf bireylerin bulunduğu hastane ortamlarında özellikle solunum sistemi ekipmanları kullanılan hastalarda bu ekipmanların öncesinde kontamine olmuş ve direkt apirasyon yoluyla bakterinin solunarak alınma olasılığı korkutucu bir olgudur. Ayrıca cilt yaralarının var olduğu hastalarda *L. pneumophila* ile kontamine suyun deri invazyonu sonucu enfeksiyon oluşabilmektedir (45,47,48).

Sonuç olarak hastanede herhangi bir sebeple bulunan bağıışıklığı baskılanmış hastalarda *L. pneumophila* ile enfeksiyon olasılığı yüksektir. Nozokomiyal pnömonili hastalarda tanı erken konulmazsa mortalite oranı %50'ye ulaşabilmektedir (9).

Nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi için çeşitli kuruluşlara ait öneriler vardır. Bunlardan birisinde rutin çevre kültürü ile tanının hastane kaynaklı lejyoner hastalığından korunmak için önemli olduğu, bu durumun klinik hekimlerce ileri laboratuvar testlerinin yapılmasında yönlendirici olacağı ifade edilmektedir. CDC ise hastane kaynaklı Lejyoner hastalığı vakası olması durumunda çevre kültürü yapılması gerektiğini belirtmektedir (13,16,50,63).

2.7. Tedavi

Legionella enfeksiyonlarının tedavisinde eritromisin ile tedavi en yaygın olanıdır. Fakat ağır olgularda eritromisine ek olarak rifampisin de kullanılmalıdır. Penisilin grubuna ait antibiyotikler *Legionella* bakterilerinin doğal direnci sayesinde etki etmezler. Ayrıca eritromisin, gastrointestinal ve yüksek dozda ototoksik gibi yan etkileri nedeniyle hekimler tarafından tercih edilmemektedir. Son yıllarda yapılan tedavi uygulamalarında azitromisin ile klaritromisin gibi geniş antibakteriyel etki spektrumlu makrolidler ve siprofiloksasin, perfloksasin gibi kinolonlar kullanılmaktadır. Makrolidler, kinolonlar, rifampin, trimetoprim-sulfametoksazol ve tetrasiklinlerin, *in vivo* koşullarda, *Legionella* türlerinin tedavisinde olumlu sonuçlar alındığı belirtilmiştir (64). Tedaviye ilk cevap 2-5 gün içinde alınır. Tedavinin toplam süresi 10-14 gündür. İmmünsüprese hastalarda bu süre 21 güne çıkmaktadır (60). Lejyonellozda uygun tedaviye başlamakta gecikilmesi özellikle risk gruplarında mortaliteyi anlamlı oranda arttırmaktadır (65).

2.8. Çevresel Örneklerde *Legionella* Türü Bakteri İzolasyon Yöntemleri

Çevresel örneklerden *Legionella* spp.'nin izolasyon aşaması ile ilgili standart bir yöntem yoktur. Çeşitli kuruluşlardan örneklerin izolasyon yöntem önerileri bulunmaktadır. Bu yöntemlere örnek olarak;

CDC'e göre; su örneklerinin alındığı kaynaktan aynı zamanda sürüntü örneğininide alıp birbirleriyle bağlantılı değerlendirme yapılmasını önermektedir. Alınan örneklerin 15 dakika asitle muamele edildikten sonra Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE), Glycine- polymyxin B- anisomycin-vancomycin (GPAV) ve Polymyxin B-anisomycin-vancomycin (PAV) besiyerlerine ekilmesi gerekmektedir (63).

Veterans Affairs Medical Center'ın (VAMC) çalışma yöntemine göre; yalnızca sürüntü örneğinin alınmasının yeterli olduğu düşünülmektedir. Alınan örnekler 3 dakika asit muamelesi ile dekontamine edilip, BCYE ve Dye-Glycine-Vancomycin-Polymyxin B (DGVP) besiyerlerine ekilmektedir (66).

Hijyen enstitüsüne göre; izolasyon yöntemi olarak, yalnızca su örneği alınması gerekir. Alınan su örnekleri 15 dakika asit ile dekontamine aşamasından sonra BCYE ve Glycine-vancomycin-polymyxin B-cycloheximide (GVPC) besiyerlerine ekim yapılır (66)

Uluslararası standart metod yöntemine göre; su ve sürüntü örneklerinin asit veya ısı muamelesi ile dekontaminasyonu yapılmalı ve takiben BCYE ve GVPC besiyerlerine ekilmesi önerilmektedir (67).

Avustralya standart metoduna göre; ise asit ile muamelede dekontaminasyon işlemini özellikle yüksek oranda kontaminasyon belirtisi gösteren örneklerde önermektedir (67).

Çeşitli yöntemlerde gerçekleştirilen asit ile dekontamasyon muamele süresi 5 ile 30 dakika arasında değişmektedir. Fakat özellikle çevre örneklerinde 1/10 oranında pH 2,2 KCl-HCl karışımıyla 5 dakika muamelenin *Legionella* dışı bakterilerin uzaklaştırılmasında başarılı olduğu ve *Legionella* cinsi bakteri izolasyon yüzdesini azaltmadığı belirtilmiştir (68).

2.8.1. Legionella İzolasyon Aşamasında Kullanılan Besiverleri

Zenginleştirilmiş Mueller-Hinton Agar: *L. pneumophila* identifikasyon aşamasında kullanılan ilk yapay besiyeri %1 IsoVitaleX ve %1 hemoglobinle zenginleştirilmiş Mueller-Hinton agardır (69).

Feeley-Gorman (F-G) Agar: Feeley ve arkadaşları (1978) zenginleştirilmiş Mueller-Hinton besiyerindeki hemoglobin ve IsoVitaleX'i L-sistein HCl ve ferrik pirofosfat ile değiştirerek F-G agarı üretmişlerdir (69).

Charcoal Yeast Extract (CYE) Agar: Feeley ve arkadaşları (1979) tarafından üretilen bu besiyeri içeriğinde; L-sistein, ferrik pirofosfat, maya özütü ve aktive edilmiş kömür vardır (70).

Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) Agar: *Legionella* bakterilerinin üremesinde ortam pH derecesi ciddi bir öneme sahiptir. Pascullo ve arkadaşları (1998), agar pH seviyesini 6,9 yapabilmek için CYE agara ACES (N-2-asetamido-2-aminoetansülfonik asit) ilave ederek bu dengeyi sağlamışlardır (71).

2.8.2. Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Uygun koşullarda alınan su ve sürüntü örnekleri BCYE agara ekildikten sonra nemli ortamda 35-37 °C'de 10-15 gün inkübasyon aşamaları gözlemlenir. %2-5 CO₂'li etüv kullanılması en iyi sonucu vermektedir (18).

Kültürler 24 saatlik inkübasyon sonrası koloni mikroskobu aracılığıyla günlük olarak değerlendirilmelidir. Koloni mikroskobu ile ya da çıplak gözle gri-beyaz, buzlu cam görünümünde koloniler aranır. Şüpheli her bir koloniden BCYE ve kanlı agar gibi genel besiyerine pasaj yapılır ve 48 saat inkübe edilir. Yalnızca *Legionella* türlerinin izolasyonu için özel üretilmiş BCYE agarda nadir de olsa güç üreyen bakterileri gözlemek mümkün

olabilmektedir. Bu bakteriler arasında; *Francisella tularensis*, *Bordetella pertussis* ve *Nocardia asteroides* örnek olarak gösterilebilir. *Legionella* şüpheli koloniden yapılan pasaj sonucunda BCYE agarda üremenin gerçekleşmesi ile Kanlı agar gibi genel kullanım özelliğine sahip besiyerine ekim yapıp üremenin gözlenmemesi beklenir. Bu durumda ilk değerlendirme aşaması için *Legionella* olarak tanımlanabilir (18).

İlk 3-5 günden önce üremeyen koloniler, makroskopik inceleme olarak 1-4 mm çapında, gri-beyaz, yapışkan ve konveks yapıda gözlenir. *L.pneumophila* dışındaki diğer *Legionella* türleri parlak mavi-beyaz veya parlak kırmızı otofloresan görüntüde olabilirler (18). Gram boyama aşamasında safranin yerine bazik fuksin kullanıldığında; 0.5µm eninde, 1-2 µm boyunda, bazen pleomorfik ve 20 µm'ye erişebilen Gram negatif basiller gözlemlenir. Tür düzeyinde tanımlama aşamasında DFA (Direkt Floresan Antikor), IFA (İndirekt Floresan Antikor) ve lateks aglütinasyon testleri olmak üzere birden fazla yöntem bulunmaktadır.

2.9. Legionella Cinsi Bakterilerin Tür Tanısı ve Serogruplandırılması

Tür düzeyinde *Legionella* tayini yapmak için biyokimyasal, morfolojik ve enzimatik açıdan yapılan testler anlamlı olmasına rağmen özgünlük değerleri düşüktür. *Legionella*'nın cins düzeyindeki identifikasyona kıyasla, tür düzeyindeki tayini daha risklidir. Genellikle tür tayinin sağlıklı sonuçlar vermesi amacıyla referans laboratuvarlar tarafından yapılması önerilmektedir. Kültürde üreyen şüpheli kolonilerin doğrulanması ve tür tanısının yapılması birden fazla yöntemle yapılmaktadır (67).

2.9.1. Lateks Aglütinasyon Yöntemi

Legionella hücre duvarı antijenlerine karşı, tavşandan elde edilen antikorlarla duyarlılaştırılmış benzer serogruptan olan *Legionella* bakterilerinin, mavi renkli latex partiküller ile aglütinasyonu esasına dayanmaktadır. Latex aglütinasyon test kitleri bu amaçla sıklıkla kullanılmaktadır (72-75).

2.9.2. Hasta ve Cevreden İzole Edilen Suslar Arasındaki İlişkiyi Belirleyen Testler

Bu aşamada genetik temellere dayalı çok sayıda test kullanılmaktadır;

- ✓ DNA Hibridizasyonu,
- ✓ Monoklonal Antikor (MAB) Deneyi,
- ✓ İzoenzim Analizi ve Karbonhidrat Profili,
- ✓ Plazmid Analizi,
- ✓ Restriksiyon Endonükleaz Analizi,
- ✓ Kromozomal DNA Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP),
- ✓ 16S-23S Uzunluk “Spacer” Analizi,
- ✓ PCR yöntemi.

Epidemiyolojik açıdan yapılan bu çalışmalarda en doğru sonuca referans laboratuvarlar gibi deneyimli ve olanakları geniş birimler aracılığıyla ulaşmak mümkündür (71,72,74,76-80).

2.9.3. Direkt Floresan Antikor (DFA) Deneyi

CDC'den Cherry ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (16). Alt solunum yolu örneklerinde en sık görülen *Legionella* türlerinin doğrulanması ve tür tayini DFA tekniği ile türe ve serogruba özgül dış membran proteinlerine karşı hazırlanan monoklonal tavşan antikorları, fluorescein isothiocyanate (FITC) ile konjuge edilerek kullanılır. Tekniğin 2-4 saat içerisinde sonuç veriyor olması bir avantaj olarak kabul edilmektedir (9,40,67).

2.10. Su Dağıtım Sistemlerinin Dezenfeksiyonu

Dezenfeksiyon aşamasında en temel iki başlık olarak;

1. Fiziksel Dezenfeksiyon Yöntemleri

- ✓ Membran filtrasyon
- ✓ Termal yöntem
- ✓ Ultraviyole ışınları

2. Kimyasal Dezenfeksiyon Yöntemleri

- ✓ Serbest klorlama
- ✓ Bakır-gümüş izolasyonu
- ✓ Monokloramin

2.10.1. Fiziksel Dezenfeksiyon Yöntemleri

2.10.1.1. Membran Filtrasyon

Yapay su sistemlerindeki suyun kullanımından önce 0,2 µm por çapındaki filtrelerden süzülmesi nozokomiyal *Legionella* bulaşının engellenmesinde etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir (81).

2.10.1.2. Termal Yöntem

Yapay su sistemlerinde bulunan musluklar ve duş başlıklarını sıcaklığı 60 °C'den yüksek ve 30 dakikalık süreyle suyun akıtılmasının (superheat-and-flush) etkili bir bakteriyel arındırma yöntemi olduğu ifade edilmektedir. Bu yöntemin dezavantajı; tekrar kolonizasyon riski ile kalıcı çözüm olmayışıdır (82,83).

2.10.1.3. Ultraviyole ışınları

Kısa dalga boylu UV (ultraviyole) ışınları, timin dimerleri sayesinde hücresel DNA hasarına yol açarak *Legionella*'ya karşı biosidal bir etkinlik gösterir. Bu sistemler lokal dezenfeksiyonda kullanılmaktadır. Ultraviyole ışınları, kalıntı bırakmadığından yeniden kolonizasyon görülmemesi için, distal bölgeler süper ısıtma ve akıtma yöntemiyle dezenfekte edilmesi uygundur. Kalıntı bırakmama özelliği sayesinde çevreye zarar vermemektedir. Bu özellik atık su dezenfeksiyonunda avantaj olarak kullanılabilir. Yöntemin tek başına kullanmak yerine etkinliğini arttırmak amacıyla gümüş-bakır iyonizasyonu ve klorlama ile beraber kullanılması önerilmektedir. Ultraviyole ışık kaynağında tortu birikimini engellemek için ön filtrasyon zorunludur (6,82,84).

2.10.2. Kimyasal Dezenfeksiyon Yöntemler

2.10.2.1. Serbest Klorlama

İçme suyu sistemlerinde rutin olarak yapılan serbest klorlama (<0.5 mg/l) biyofilm ilişkili olarak, *Legionella* ve *Legionella* benzeri mikroorganizmalarda biyosidal etki göstermemektedir. *Legionella* bakterileri, *E. coli* ve diğer koliform bakterilere göre klora karşı yüksek dirençliliğe sahiptir. Standart düzeydeki klor, biyofilm tabakasına, periferel bölgelere ve su tesisatındaki durağan bölgelere ulaşamaz. Okside edici ajan olarak kullanılan klor konsantrasyonu arttırılması durumunda, dağıtım sistemindeki bütün bölgelere ulaşarak *Legionella*'nın eradikasyonu sağlanabilir. CDC'nin raporlarındaki önerisinde serbest klor konsantrasyonu en az 1mg/L olmalıdır. Ayrıca serbest klor yüksek pH'da daha az etki göstermektedir. Yüksek klor konsantrasyonunun en önemli dezavantajı 4-5 yıl klorlama yapılmış su tesisatında korozyona neden olmasıdır. Serbest klorla dezenfeksiyon sonucu ortaya çıkan ürünlerin potansiyel karsinojenik etkisi halen çalışmacılar tarafından önemsenmektedir (82,83).

2.10.2.2. Bakır-Gümüş İzolasyonu

Bakır-gümüş iyonizasyon ünitelerinden salınan elektrik akımı su dağıtım sistemine yayılan pozitif iyonlar, bakteri hücre duvarında bulunan negatif yüklü iyon bölgelerine tutunur ve elektrostatik bağlantı kurulur. Böylece hücre geçirgenliği değişir ve hasar görür. Protein denatürasyonu ve lizis gözlenir. Bakır-gümüş iyonizasyonu sistemlerde kalıntı bıraktığı için yeniden kolonizasyon gerçekleşmez. Yapılan çalışmalarda bu yöntemin etkinliğini arttırmak amacıyla UV ışınları ve klorlama yöntemleri ile beraber kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Dezavantaj olarak, yoğun emek isteyen ve yüksek maliyetle sonuçlanan bir dezenfeksiyon yöntemidir (6,82,85).

2.10.2.3. Monokloramin

İçme suyu dezenfeksiyonunda 1916'dan bu yana kullanılan bir yöntemdir. Monokloramin, amonyak ve serbest klorun suda doğru oranda ($Cl_2/NH_3=3-5$) karıştırılması ile oluşturulmuştur. Biyofilm tabakasına serbest klor dezenfeksiyon uygulamasından daha iyi

penetre olmaktadır. 4 ppm (parts per million) monokloraminin *Legionella*'nın ortadan kaldırılmasında çok etkili olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (82,83).

Monokloraminin dezenfeksiyonunun avantajı serbest klordan daha yavaş olmasına rağmen dağıtım sisteminde çok daha ileri mesafelere kadar dezenfeksiyon kalıntısını gerçekleştirebilir. Ayrıca kötü tat ve koku probleminin diğer yöntemlere oranla çok daha az olmasında avantajdır. Korozyona neden olmaz (82,83).

2.11 Önceki Çalışmalar

Yurt içi ve yurt dışında yapılan çalışmalarda, yapay su sistemlerinden *Legionella* spp. %6-100 oran aralığında izole edilmiştir.

Yurt dışında yapılan çalışmalar;

Yapılan retrospektif çalışmalar sonucunda *L. pneumophila*'nın ilk izolasyonunun 1947 yılına dayandığını göstermiştir. 1947 yılında nedeni bilinmeyen ateşli bir hastadan alınan kan kobaya enjekte edilerek ve yeni bir mikroorganizma keşfedilmiştir. Birçok bakteriyolojik besiyerlerinde üretilmeyen müşkülpesent özellikteki bu bakteriye ilk olarak "Rickettsiya'ya Benzeyen Etken" adı verilmiştir. 30 yıl sonra, 1977 yılında yapılan çalışmalarda bu bakterinin de *Legionella* cinsine ait olduğu belirtilmiştir (42,54).

Tobin ve arkadaşları, 1980 yılında Londra'da hastane kaynaklı lejyoner hastalığı görülen bir hastanın odasındaki duş başlığından etkeni tanımlamayı başarmışlardır (62,86).

Kurtz ve arkadaşları, 1982 yılında yaptıkları bir çalışmada başlangıçta 14 soğutma sisteminden 10'undan *L. pneumophila* izole etmişlerdir (87).

Edelstein ve arkadaşları, 1982 yılında Los Angeles'daki bir hastaneden aldığı 100 içme suyu örneğini *L. pneumophila* izolasyonu amacıyla 3 farklı besiyerine kültür yapmışlardır. İnokülasyon sonucu 24 örnekte *L. pneumophila* serogrup 1-4 izole edilmiştir (88).

Barbaree ve arkadaşları, 1986 yılında ABD'nin Georgia eyaletindeki hastanelerin çeşitli bölgelerinden alınan örneklerin çalışmaları sonucu toplamda 143 örneğin 56 tanesinde *L. pneumophila* izole edilmiş 13 tanesi *L. pneumophila* serogrup 1 olarak belirlenmiştir (89).

Vickers ve arkadaşları, 1987 yılında Pensilvanya bölgesinde bulunan 15 hastanenin sıcak ve soğuk su sistemlerinde yaptıkları çalışma sonucu 9 hastanenin su sisteminde *L. pneumophila* izole etmişlerdir (90). Yine bu bölgede Lee ve arkadaşları, 1988'de 55 meskenin sıcak su tankı, musluk ve duş başlıklarından aldıkları örnekler ile yaptıkları çalışmalar sonucu 6 meskenin su sisteminde *L. pneumophila* belirlemişlerdir (91).

Alary ve Joly, 1991 yılında Kanada'nın Quebec City bölgesinde yaptıkları araştırmasında toplam 178 ev su sistemi örneğinde 69'unda izole edilmiştir. 69 örneğin 26'sı su ısıtıcılarından, 10'u duş başlıklarından ve 8'i musluklardan alınan su örneklerinde izole edilmiştir. Yoğun olarak *L. pneumophila* serogrup 2-4 olduğunu belirtmişlerdir (92).

Nahapetian ve arkadaşları, 1991 Paris bölgesindeki 5 hastanenin sıcak ve soğuk su sistemlerinden aldıkları toplam 144 örneğin 66 tanesinde *Legionella* saptamışlardır (93).

Stout ve arkadaşları, 1992 yılında meskenlerden aldıkları toplam 218 örneğin 14 tanesinde *L. pneumophila* serogrup 1 olarak tanımlanmışlardır (94).

Alary ve Joly, 1992 yılında 84 hastanenin 839 bölgesinden aldıkları örnekleri 3284 sıcak su örneği çalışmaları sonucu 57 hastanede *Legionella* spp. ile kontamine olduğunu belirlemişlerdir (95).

Reinthal ve arkadaşları, 1993 yılında Avusturya bölgesinde bulunan 21 hastaneden alınan toplam 210 su örneğinde çalışmalar sonucu 72 örnekte *Legionella* spp. izole edilmişlerdir (96).

Zacheus ve arkadaşları, 1994 yılında yaptıkları çalışmada sıcak su sistemlerinin %30'unda *L. pneumophila* izole etmişlerdir (97).

Asbjorn ve arkadaşlarının, 1995 yılında Danimarka'da bulunan hastanelerin su sistemlerinde yaptıkları araştırma sonucunda 35 örneğin 34'ünde *L. pneumophila* identifiye etmişlerdir (98).

Lasheras ve arkadaşları, 1995 yılında bölgedeki 10 farklı hastanenin sıcak ve soğuk su tanklarından alınan toplam 106 su örneğinin 67'sinde *Legionella* spp. identifiye edilmiştir (99).

Atlas ve arkadaşları, Amerika'da 1995 yılında 28 diş ünitesinin çeşitli kısımlarından alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 2'sinde *L. pneumophila* 19'unda *Legionella* spp. izole edilmiştir (100).

Knirsch ve arkadaşları, 1995 yılında yaptıkları retrospektif bir araştırma sonucunda son 3 ay içerisinde toplamda 38 transplantasyon hastasının (böbrek ve kalp) 12'sinde *L. micdadei* identifiye edilmiş olduğu bilgisine ulaşmışlardır. Bu çalışma doğrultusunda, klinik ortamdan ve çevreden alınan çeşitli örneklerden izole edilen bakterilerin "pulsed-field gel electrophoresis" ile DNA'ları incelenmiş, sıcak su sisteminden ve hastalardan izole edilen suşların benzer DNA lara sahip olduğu belirtilmiştir. Böylece Lejyoner hastalığı etkeninin, su sistemlerinde yalnızca *L. pneumophila* serogrup 1'in kolonize olması ile değil, immün supresif bireylerde diğer *Legionella* türlerinin de infeksiyon kaynağı olabilme ihtimali bildirilmiştir (101).

Ta ve arkadaşları, 1995 yılında yaptığı çalışmada 33 örneğin tümünde (%100) *Legionella* saptamışlardır (66).

Plouffe ve arkadaşları, 1996 yılında 6 hastane binasının çeşitli bölgelerinden aldıkları örnekleri incelemeleri sonucu sıcaklık dereceleri 43-45 °C olan 4 hastane binasında *L. pneumophila* serogrup 1 izole etmiş, *L. pneumophila* varlığı saptanmayan binaların sıcaklığı ise 58-60 °C olarak belirlemişlerdir (102).

Leoni ve arkadaşları, 2001 yılında İtalya'da çeşitli bölgelerdeki sıcak su sistemlerinden alınan toplam 137 örneğin 54'ünde *Legionella* spp. 45'inde ise *L. pneumophila*'nın kolonize olduğu belirtilmiştir (103,104).

Zietz ve arkadaşları, 2001 yılında Almanya'nın Göttingen bölgesindeki 70 özel ve kamu binasından alınan çeşitli örneklerin çalışılması sonucu, 18 su örneğinde *Legionella* spp. izole etmişlerdir (105).

Borella ve arkadaşları, 2002 yılında İtalya'daki araştırmasında konutların su sistemlerinden alınan toplam 146 su örneğinin 56'sında *Legionella* spp. identifiye etmişlerdir (106).

Stojek ve Dutkiewicz, 2002 yılında bahçıvanlar açısından risk oluşturan fiske sularında yaptıkları çalışmada, *L. pneumophila* serogrup 2-14'ün %13.9, *Legionella* spp.'nin ise %8.3 oranında izole edildiği belirtilmiştir. Klâsik seralarda yaptıkları çalışma sonucunda ise %15 oranında *L. pneumophila* serogrup 2-14 ve %10 oranında *Legionella* spp. izole edildiği belirtilmiştir (107).

Kusnetsov ve arkadaşları, 2003 yılında hastanelerin sıcak su sistemlerinde yaptıkları çalışmada, *Legionella* cinsi bakterilerin sıcaklığa ve pH değerine bağlı olarak daha çok kolonize olduğu çalışma sonuçları doğrultusunda belirtilmiştir (108).

Lück ve Liebscher, 2003 yılında Almanya'da 77 su örneği baz alınarak yapılan bir çalışmada, örneklerin 19'unda *Legionella* tespit edildiği, bunların 9'unun *L. pneumophila* serogrup 1, 10'unun ise *L. pneumophila* serogrup 2-14 olduğu gösterilmiştir (109).

Johansson ve arkadaşları, 2005 yılının Ocak ayında pnömoni tablosu gözlenen Çocuk Hastalıkları servisindeki 2 yaşındaki bir kız çocuğundan izole edilen *L. pneumophila* serogrup 1'in aynı hastanenin soğuk su sisteminden alınan örnekten izole edilen suşla benzer olduğunu tespit etmişlerdir (110).

Lasheras ve arkadaşları, 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada soğuk ve sıcak su sistemlerinden aldıkları toplam 106 örnekte 67 *Legionella* spp. izole etmişlerdir (111).

Rivera ve arkadaşları, 2007 yılında İspanya'daki bir hastanede yaptıkları çalışmada, 2341 su örneğinin incelenmesi sonucu 373 örnekte *Legionella* spp. izole etmişlerdir (112).

Lück ve arkadaşları, 44 yaşındaki beyin ameliyatı geçirmiş ve pnömoni tablosu görülen hastadan izole edilen *L. pneumophila* serogrup 12 suşunun çevreden izole edilen suşla benzer olduğunu saptamışlardır (113).

Goutziana ve arkadaşları, 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada yolcu gemisi ve feribotların su dağıtım sistemleri ve klima sistemlerinden aldıkları toplam 276 örnekten 87 *L. pneumophila* izole etmişlerdir (114).

Napoli ve arkadaşları, 2000-2009 yılları arasında 129 hastaneden ve 533 binadan aldıkları örneklerin çalışılması sonucu 102 hastanede ve 238 binada *Legionella* spp. izole etmişlerdir. İzole edilen bakterilerden çoğunlukla *L. pneumophila* serogrup 2-14 ve *L. pneumophila* serogrup 1 olarak belirtmişlerdir (115).

Yurt içinde yapılan çalışmalar;

Erdoğan ve arkadaşları, Alanya'daki otel su dağıtım sistemlerini *Legionella* spp. varlığını araştırdıkları çalışmada alınan toplam 491 örneğin 93'ünde *Legionella* spp. saptamışlardır (116).

Çotuk ve arkadaşları, 1995 yılının Ocak ayından 1997 yılının Temmuz ayına kadar yaptığı çalışma İstanbul'daki 70 farklı binanın sıcak ve soğuk su sistemlerini *L. pneumophila* varlığı açısından incelemeyi amaçlamışlardır. Araştırmacılar örnek topladıkları 63 otel binasının 3'ünde *L. pneumophila* serogrup 1 ve 12'sinde *L. pneumophila* serogrup 2-14 izole etmişlerdir (117).

Köksal ve arkadaşları, 1998 yılının İstanbul'da Mayıs-Ağustos aylarında İstanbul'da 3 farklı eğitim ve araştırma hastanesinin çeşitli bölgelerinden aldıkları toplam 61 su örneği ile yaptıkları çalışmalarında yalnızca 1 hastaneden alınan su örneklerinin 3'ünde *L. pneumophila* serogrup 1 ve 1'inde *Legionella* spp. saptamışlardır (118).

Yıldırım, 1996 yılında Şişli Etfal Hastanesi'nin su dağıtım sisteminin 52 farklı bölgesinden alınan su örneklerinde yaptığı çalışmalar sonucunda su dağıtım sisteminin %30.7 oranında *Legionella* ile kolonize olduğunu tespit etmiştir (119).

Nakipoğlu ve Gürler, 1999 yılında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin farklı birimlerinden aldığı toplam 100 su örneğini çalışması sonucu 6 adet *Legionella* spp. saptamışlardır. 1997 yılında Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yaptığı başka bir araştırmada ise yalnızca hastalardan alınan örnekler *L. pneumophila* açısından incelenmiş, öncesinde atipik pnömoni teşhisi koyulmuş 83 hastadan 11'inde lejyonelloz tespit edilmiştir. Bu klinik suşların Nakipoğlu'nun çalışmasından izole edilen çevre suşlarıyla benzerlik gösterdiği düşünülerek infeksiyon kaynağının hastanenin kontamine su sistemleri olabileceğini ifade edilmiştir (120).

Akbaş ve arkadaşları, 1999 yılında Ege ve Akdeniz bölgelerindeki otellerin su sistemlerinden alınan toplamda 324 su örneğinin 57'sinde *Legionella* spp. izole etmişlerdir. Uygun dekontaminasyon işlemleri uygulandıktan sonra yeniden alınan örneklerde su sistemlerinin 5'inde *Legionella* kolonizasyonunun devam ettiği saptanmıştır (121).

Miroğlu ve arkadaşları, 1999 yılında 266 otelden aldıkları örneklerin çalışılması sonucu 16 örneğin 2'sinde *L. pneumophila* serogrup 1, geri kalan örneklerin 2'sinde *Legionella* spp. 17'sinde de *L. pneumophila* serogrup 2-14 tanımlamışlardır (122).

Zeybek ve arkadaşları, 2000 yılında İstanbul civarında bulunan 139 otelin sıcak ve soğuk su sistemlerinden toplam 554 su örneğini *Legionella* açısından incelemiştir. 57 binada, 124 *L. pneumophila* identifiye etmişlerdir (43).

Erandaç ve Elaldı, 2001 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nin musluklarından ve duşlarından alınan 93 su örneği araştırmışlar ancak *Legionella* cinsi bakterilere rastlamamışlardır (123).

Köse ve arkadaşları, 2002 yılının Nisan – Eylül tarihleri arasında Antalya ilindeki 38 turistik tesisten alınan toplam 106 su örneğinin çalışılması sonucu, soğutma kulelerinden alınan su örneklerinin 6'sında, sıcak su tanklarının ise 4'ünde olmak üzere toplam 10 *L. pneumophila* izole etmişlerdir (124).

Uzel ve arkadaşları, 2005 yılında İzmir ilindeki 24 otelden aldıkları toplam 168 su örneğinin 110'unun *L. pneumophila* serogrup 1 olmak üzere toplamda 128'inde *Legionella* spp. izole etmişlerdir (125).

Birteksöz ve arkadaşları, 2006 yılında İstanbul ilindeki 56 binadan aldıkları toplam 225 su örneğininin çalışılması sonucu suşların 16'sı serogrup 1, 34'ü serogrup 2-14 olmak üzere toplamda 50 *L. pneumophila* suşu izole etmişlerdir (126).

Türetgen ve arkadaşları, 2005 yılında İstanbul'da 50 soğutma kulesinden alınan toplam 103 su örneğininin 27'sinden *L. pneumophila* izole etmiş, suşların 11'i *L. pneumophila* serogrup 1 olduğunu bildirmişlerdir (127).

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 2004 yılının Haziran ayında bir lejyoner hastalığı vakası belirlenmiş ve ardından iki haftalık süre içerisinde vaka sayısı altıya çıkmıştır. 400 hastane personeli ve 100 sağlıklı kişinin serum örneklerinde yapılan çalışma sonucu 400 personelin 24'ünde ve 100 sağlıklı kişinin 7'sinde antikor titresi sınır değerin üzerine çıktığı belirlenmiştir. Hastanenin farklı birimlerinden alınan 22 su örneği ile yapılan çalışmada ise örneklerin 15'inde *L. pneumophila* identifiye edilmiştir. PFGE (Pulse field gel electrophoresis) yöntemi ile sonuçlar değerlendirildiğinde çevreden izole edilen tüm suşların klinik numunelerden izole edilen suşlarla benzer olduğu belirlenmiştir (128).

İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesinde yapılan bir araştırmada, farklı birimlerden aldığı toplam 100 su örneğininin 3'ünde *L. pneumophila* serogrup1, 4'ünde ise *Legionella* spp. olmak üzere toplam 7 *L. pneumophila* suşu izole ve identifiye edilmiştir (129).

2008 yılında Kayseri ilinde, 8 hastane, 10 okul, 5 otel ve 6 meskenden alınan toplamda 120 örneğin *Legionella* yönünden araştırılması sonucu, 2'si *Legionella* spp., 6'sı *L. pneumophila* serogrup 1 olmak üzere 8 *Legionella* cinsi bakteri izole tanımlanmıştır (130).

Erdoğan ve Arslan, ülkemizin turistik bölgesinde bulunan Alanya'da yeni faaliyete geçen bir otelde konaklayan 66 yaşındaki bir erkek olgu, üç gün boyunca devam eden yüksek ateş, baş ağrısı ve ishal şikayetleri ile bölgedeki hastaneye başvurmuştur. Bu ve daha önceki olgular incelendiğinde pnömoni tanısı ile izlenen olgularda olası lejyoner hastası saptanmıştır ve bu hastaların aynı otelde konaklamış olduğu bilgisine ulaşılmıştır. Yapılan araştırmada, otelde şehir şebeke suyu hattının doşenmemiş olduğu ve otelde kuyu suyu su kaynağı olarak kullandığı tespit edilmiştir. 2009 yılında yapılan bu çalışmada otelin su sisteminin değişik bölgelerinden alınan örneklerin analizinde 13 örneğin 11'inden *Legionella* spp. izole edilmiş

ve suşlar özgül antiserumlarla yapılan tiplendirmede *L.pneumophila* serogrup 1 olarak tiplendirilmiştir (131).

Eskişehir’de Pınarbaşı’nın 2011’de yaptığı uzmanlık tezinde, hastanelere ait 100 musluktan aldığı toplam 200 su ve sürüntü örneğini *Legionella* yönünden araştırmış ve 23 musluktan alınan 29 örnekte *Legionella* spp. izole etmiştir. İzolatların 23’ünü *L. pneumophila* serogrup 2-14, 6’sı *L. pneumophila* serogrup 1 olarak tiplendirilmiştir (132).

Burak ve Zeybek, 2011 yılında İstanbul’daki 61 eve ait duş başlıklarından alınan sıcak su ve sürüntü örneklerini *L. pneumophila* yönünden araştırmışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda evlerin 13’ünde *L. pneumophila* izole etmişlerdir. İzole edilenlerin 11’i *L. pneumophila* serogrup 2-14, 2’si *L. pneumophila* serogrup 1 olarak gruplandırmıştır (133).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul'unun 28/12/2016 tarih ve 07 sayılı kararı ile onay alındı. Çalışma Etik Kurul ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji anabilim dalı tarafından belirtilen öneriler doğrultusunda düzenlendi.

Çalışmamızda Nisan-Ekim 2017 tarihleri arasında Kahramanmaraş il merkezinde bulunan 35 caminin; su depolarından ve lavabo musluklarından su örnekleri, musluk başlıkları ve klima filtrelerinden ise sürüntü örnekleri olmak üzere toplam 230 örnek alınmış, *Legionella* cinsi bakteri varlığı yönünden incelenmiştir.

3.1 Gereç

3.1.1. Cam ve Plastik Malzemeler

- 250 mL'lik steril su numune şişeleri
- Steril burgu kapaklı cam tüpler
- Steril eküvyon çubukları
- Steril plastik öze (10 µl ölçülü)

3.1.2. Cihazlar

- Otoklav
- İnkübatör
- Vorteks (karıştırıcı, VF 2500 devir/dakika)
- Biyogüvenlik kabini
- Laboratuvar saati
- Işık Mikroskobu (Olympus CX21, Japonya)

3.1.3.Besiyerleri

Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) Besiyeri:

1979 yılında Feely ve arkadaşları, Charcoal Yeast Extract (CYE) Agar'ın mevcut besiyeri olan F-G Agar'ın yenilenmiş hali olduğunu ifade etmişlerdir (134,135). F-G Agar içeriğindeki nişastayı etkinleştiren kömür ile değiştirdiler ve yerine kazein hidrolizat için maya ekstratı koydular, bu da daha iyi *L. pneumophila* geri kazanımıyla sonuçlandı. 1980'de, Pasculle CYE Agar'ın ACES Tamponuna sahip besiyerini tamponlayarak geliştirilebileceğini bildirdi (136). 1981 yılında, Edelstein alfa-ketoglutarat (BCYE Agar) ekleyerek besiyerinin duyarlılığını daha da arttırdı (137).

Legionella cinsi bakterilerin izolasyon amaçlı üremesi için kullanılan primer besiyeri olan selektif besiyeri özelliğine sahip Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE), besiyerlerinin temelini oluşturan CYE Agar ve BCYE üreme katkı maddesinin karışımından oluşmaktadır.

CYE Agar (OXOID, CM 655, İngiltere) içeriği:

Aktif kömür.....	2,0 g/l
Maya özütü.....	10,0 g/l
Agar.....	13,0 g/l
pH.....	6,9 ± 0,1

BCYE üreme katkı maddesi (OXOID, SR0 110C, İngiltere) İçeriği:

Ferrik pirofosfat.....	0,25 g/l
Tamponlanmış ACES/ Potasyum hidroksit.....	10,0 g/l
L-sistein HCl.....	0,40 g/l
Alfa-ketoglutarat monopotasyum tuzu.....	1,0 g/l
KOH.....	2,4 g/l (55 ml 1N KOH)

BCYE Agar *Legionella* türlerinin izolasyonu ve kültürü için zenginleştirilmiş bir besiyeri ortamıdır. Bu besiyerinde maya ekstraktı, bakteri gelişimini desteklemek için gerekli proteini ve diğer besinleri karşılar. L-Sistein, bakterinin üretilmesinde kullanılan temel bir amino asittir. Ferric pirofosfat, bir demir takviyesi olarak *Legionella* türlerinin spesifik besin ihtiyacını karşılamak amacıyla eklenmekte, Alfa-ketoglutarat ise gelişimi uyarmak için eklenmektedir. Aktif kömür *Legionella* türleri için toksik metabolik bir ürün olan hidrojen peroksidi bozunmaya uğratar (138).

BCYE agara son olarak ilave edilen supplementler:

Amonyumsuz Glisin.....	3.0 g/l
Polimiksin B sülfat.....	80000 IU
Vankomisin hidroklorit	0.001 mg/l
Sikloheksimid	0.089 mg/l

Kanlı Agar:

Kanlı Agar, *Legionella* haricindeki bakterilerin üretilmesi amacıyla kullanılan rutin amaçlı bir besiyeridir. Bu besiyeri *Legionella* türü bakterileri için temel amino asit kaynağı olan L-sistein içermemesinden dolayı *Legionella* türü bakterilerin üremesi gözlenmez (139).

Kanlı Agar (Oxoid CM0055) içeriği:

'Lab-Lemco' Powder.....	10 g/l
Pepton	10 g/l
Sodyum klorid.....	5 g/l
Agar.....	15 g/l
Defibrin kan.....	50 ml

3.1.4 Kimyasal Maddeler

Sitokrom Oksidaz Ayıracı ve Oksidaz Deneyi:

Tetrametil-p-fenilen diamin dihidroklorür.....1.0 g
Distile su100 ml
%0,5 oranında oksidaz çözeltisi hazırlanır.

BCYE agarda üreyen bakteri kolonilerinden steril öze yardımı ile bir öze dolusu kültür alınarak, oksidaz ayıracı damlatılmış olan steril filtre kağıdı üzerine koyulup hafifçe karıştırılır. 5-10 saniye içinde koyu mor-mavi rengin oluşması oksidaz negatif sonuç olarak değerlendirilir (140).

Katalaz Ayıracı ve Katalaz Deneyi:

Aerobik bakteri grubuna giren *Legionella* spp. katalaz enzimine sahip olduğundan ortamdaki hidrojen peroksidi (H₂O₂) su ve oksijene ayrıştırır.

BCYE agarda üreyen bakteri kolonilerinden steril öze yardımı ile bir öze dolusu kültür alınarak, temiz bir lam üzerinde distile su ile süspansiyon edilir. Süspansiyon üzerine bir öze dolusu %30'luk H₂O₂ eklenerek karıştırılır. Karışımda birkaç saniye içinde hava kabarcıklarının oluşumu katalaz pozitif sonuç olarak değerlendirilir (141).

Gram Boyama:

Gram boyama yöntemi tüm mikroorganizmaların rutin olarak mikroskopik boyutta incelenmesi amacıyla kullanıldığı gibi *Legionella* spp. türleri için de kullanılmaktadır. Gram negatif türler arasında olan *Legionella* spp. lipopolisakarit -fosfolipid dış membrana yapışık ince bir peptidoglikan tabakaya sahiptir. Gram boyama aşamasında membran dışının rengini çıkarma işleminde alkol etkisi ile zarar görek, kristal viyole-iyot kompleksini bırakır; hücre şeffaf görünüm kazanır böylelikle mikroskopik anlamda görüntü sağlanamaz (142).

Hucker'in modifikasyon tekniği ile hücre son boyama işleminde kullanılan bir zıt boya ile boyanır ve pembe renkli görünür. Karbol fuksin modifikasyon yöntemi ile zıt boya olarak safranin yerine karbol fuksin veya bazik fuksin kullanılır. Bu modifikasyon başta *Legionella* spp., *Campylobacter* spp., *Brucella* spp. gibi zayıf boyanma özelliğindeki bazı Gram negatif bakterilerde geçerliliği yüksektir. Zıt boya genellikle daha uzun bir süre boyunca uygulanır. Bizim çalışmamızda da bu yöntem ile bakterinin tanımlanması amaçlandı (142).

Kristal viyole stok solüsyonu içeriği:

Kristal viyole (%90-95 boya içeren).....40 g
Etanol (%95).....400 ml

Lugol-iyot stok solüsyon içeriği:

Iyot kristalleri.....25 g
Potasyum iyodid.....50 g
Distile su.....500 ml

Safranin yerine kullanılan Karbol Fuksin içeriği:

Reaktif 1

Bazik fuksin0.3 g
Etanol, %95..... 10 ml

Bir kahverengi şişede bazik fuksin etanol içerisinde eritilir.

Reaktif 2

Eritilmiş fenol kristalleri..... 5 ml

Distile su..... 95 ml

Fenol kristalleri distile su içerisinde eritilir ve Reaktif 1'e eklenir (143).

3.1.5. Legionella Cinsi Bakterilerin Tür ve Serogrup Düzeyinde Tanımlanması

Lateks Aglütinasyon Test kitinin içeriği:

Legionella Lateks Aglütinasyon Testi (Oxoid, DR0800, İngiltere) çeşitli kaynaklardan alınan örneklerin *Legionella* spp. tür ve serogruplarının tanımlanmasında kullanılan bir testtir (139).

- ✓ *Legionella pneumophila* serogrup 1 deney ayırıcı, mavi latex partikülleri ile kaplı spesifik tavşan antikoru.
- ✓ *Legionella pneumophila* serogrup 2-14 deney ayırıcı, mavi latex partikülleri ile kaplı spesifik tavşan antikoru.
- ✓ *Legionella pneumophila*'nın dışındaki diğer *Legionella* spp. için deney ayırıcı, mavi latex partikülleri ile kaplı spesifik tavşan antikoru.
- ✓ Pozitif kontrol süspansiyonu: *Legionella* hücrelerinin tamponlanmış polivalan süspansiyonunu içermektedir. Deney ayıraçları ile pozitif sonuç vermesi gerekmektedir.
- ✓ Negatif kontrol süspansiyonu: *L. spiritensis* hücrelerinin fizyolojik tuzlu sudaki süspansiyonunu içermektedir. Deney ayıraçları ile negatif sonuç vermesi gerekmektedir.
- ✓ Kontrol lateks: Reaktif olmayan tavşan globulinleri ile duyarlılaştırılmış mavi lateks partikülleri içermektedir. Bu kontrol yalancı pozitifliğin incelenmesi amacıyla yapılır. Deney ayıraçları ile pozitif sonuç vermiş suşlar bu süspansiyon ile negatif sonuç vermesi gerekmektedir.
- ✓ Bakteri süspansiyonu hazırlamak için fosfat tamponu solüsyonu,

- ✓ 50 adet tek kullanımlık reaksiyon kartları içermektedir.
- ✓ Kit 2-8 °C’de muhafaza edilmelidir (139).

Kitin duyarlılığı kullanım kılavuzunda %99, özgülüğü ise %100 olarak belirtilmiştir.

Kültür ve biyokimyasal deneylerin sonuçları *Legionella* cinsi olduğunu göstermesine rağmen, *Legionella* lateks aglütinasyonu ile negatif sonuç veren suşlar, kesinlikle *Legionella* spp. negatiftir düşüncesine varılamaz. Bu kit içeriğinde bulunmayan diğer *Legionella* spp. türlerinden biri olma ihtimali de göz önünde bulundurulmalıdır (129).

3.2. Yöntem

Su ve sürüntü örnekleri Kahramanmaraş il merkezinin çeşitli bölgelerinde bulunan camilerin depo suları, şadırvan musluk suları, musluk başlıkları ve klima filtrelerinden alınması amaçlanmıştır. Su örneklerinin alınması amacıyla 250 ml’lik su numune şişeleri, sürüntü örneklerinin alınmasında kullanılan burgu kapaklı cam tüpler ve eküvyon çubukları çalışmaya başlamadan önce 121 °C’ de 20 dk uygun şartlarda otoklavda (Hirayama HV-50L, Japonya) steril edilmiştir.

3.2.1. Su Örneklerinin Alınması

Örnek alınacak depo tahliye muslukları ve şadırvan muslukları tespit edildikten sonra; musluk başlıkları bir çakmak yardımıyla alevden geçirilerek steril edilmiştir. İlk aşamada önceden steril edilmiş 250 ml ‘lik su numune şişelerine musluk açılıp 100 ml su alınmıştır. Daha sonra musluk tazyikli akıtılarak musluğun ağız kısmındaki yabancı mikroorganizmaları uzaklaştırmak amaçlanmıştır. İkinci kez steril su numune şişesine 100 ml su örneği alınmıştır. Alınan örneklerin, numara ve tarih bilgileri kaydedilmiştir.

3.2.2. Sürüntü Örneklerinin Alınması

Önceden steril edilmiş burgu kapaklı cam tüp ve eküvyon çubuğu ile su örneği alınan depo tahliye muslukları ve şadırvan muslukları ile diğer tespit edilen musluklardan örnek alınmıştır. Böylelikle su örneğinin alınacağı alanlardan sürüntü örneği de alınmıştır.

Musluk başlıklarından sürüntü örneği alınırken musluk hafifçe açılarak birkaç damla akmasıyla musluk ağız kısmının ıslanması sağlanır. Daha sonra steril eküvyon çubuk musluk ağzından içeri sokularak 4-5 defa musluk iç çeperinden çevrilerek olabildiğince sürüntü örneği alınmıştır. Alınan eküvyon çubuğu aynı musluktan yaklaşık 25-30 ml su konulmuş burgu kapaklı cam tüplere konularak ağzı kapatılmıştır.

Klima filtrelerinden sürüntü örneği almak için öncelikle burgu kapaklı cam tüp içerisine yaklaşık 25-30 ml distile su konulup eküvyon çubuğu bu su yardımıyla ıslatılmıştır. Daha sonra klimanın hava çıkış filtresine çepeçevre sürülerek yeterli miktarda sürüntü örneği alınmış ve burgu kapaklı cam tüpe konulmuş kapağı kapatılmıştır.

Alınan sürüntü örneklerinin üzerine alındığı cami ve musluk numarası örneğin türü ve tarih not edilmiştir. Gün içerisinde alınan tüm örnekler laboratuvara götürülüp çalışma aşamasına geçilmiştir.

3.2.3. Su ve Sürüntü Örneklerinin Kültürü ve Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Legionella türü bakteri identifikasyonunda kültür pozitifliği altın standart olarak kabul edilmektedir. Ayrıca literatürdeki birçok çalışmada, *Legionella* izolasyonunun müşkülpesent bir bakteri olduğu ve rutin laboratuvarlarda pozitif kültür yüzdesinin çok düşük olduğu gösterilmiştir (144,145).

Depo tahliye musluklarından ve şadırvan musluklarından alınan su örnekleri laboratuvara getirelerek 3.500 rpm/30 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır. Daha sonra üst faz aseptik olarak uzaklaştırılmıştır. Santrifüj tüpündeki dipte kalan kısım, bir miktar distile su yardımıyla tekrar süspanse haline getirilerek içerisinde 0.1 ml örnek alınarak selektif besiyeri olan BCYE agara ekim yapılmıştır. Benzer şekilde musluk başlıklarından ve klima hava çıkış filrelerinden alınan sürüntü örnekleri ise eküvyon çubukları ile direkt BCYE agara ekilmiştir. Tüm ekim işlemleri biyogüvenlik kabini içerisinde gerçekleştirilmiştir. Ardından petri kapları %5 oranında CO₂ içeren nemli etüv ortamında, 37 °C'de 7-14 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Kültürler ilk 72 saatin ardından günlük inceleme yapılarak not edilmiştir. *Legionella* açısından şüpheli koloni morfolojisi tespit edilen petrilere örnek alınarak Gram boyama ile mikroskopik olarak incelenmiştir.

Çalışma süresi boyunca ekim yapılan birkaç besiyerinde yoğun olarak küf ve *Bacillus* türlerinin ürediği gözlemlendi. *Legionella* türlerinin üremesinin gerçekleşmesini engelleyen veya üreme gerçekleşse de ayırt etmede zorlayan bu farklı türlerin üremesi durumunda çalışmadan *Legionella* kolonileri alınarak pasajları yapılmıştır.

Gram boyama:

BCYE besiyerinde mukoid yapıda, gri-beyaz, konveks görünümlü *Legionella* benzeri yapıdan bir miktar alınarak lam üzerindeki sıvı ile yumuşak şekilde karıştırılıp eşit oranda ince film tabakası oluşacak şekilde temiz lam üzerinde bir damla serum fizyolojik sıvı ile karışımı sağlanarak kurumaya bırakılır.

Kuruyan lam bir penset yardımıyla rodajlı kısımdan tutularak ve Bunzen beki alevinden hızlı şekilde 2-3 kez geçirildikten sonra boyama öncesi soğumaya bırakılır.

Fiziksel tespit uygulanan lamlar; boya standına yerleştirilir ve ilk olarak Kristal Viyole solüsyonu lam üzerine direkt dökülür, 1 dk beklenir. Kristal viyole akıtılarak, çeşme suyu ile yıkanır. Daha sonra; Lugol solüsyonu preparat üzerine dökülerek 1 dk beklenip süre sonunda yıkanır. Dekolarizasyon işlemi için preparatlara %96 lık Etil Alkol uygulaması yapılır.

Gram boyamanın son aşamasında ise, Safranin yerine Karbol Fuksin boyası dökülerek yaklaşık 30 saniye bekletilip yıkanır. Preparat kurduktan sonra immersiyon yağı ile mikroskop altında 100'lük objektifle incelemeye alınır (143).

İnceleme sırasında objektif sahasında; ince çomak şeklinde, soluk pembe renkte, zayıf Gram negatif basiller gözlemlenmesi *Legionella* spp. açısından şüpheli olarak değerlendirilerek bu kolonilerden kanlı agara ve tekrar BCYE agara pasajları yapılmıştır. İlk 24-48 saat içerisinde BCYE agarda üreme gözlenip, kanlı agarda ise üremenin gözlenmemesi durumu *Legionella* spp. olma olasılığını yükseltmiştir. Petriplerdeki negatif sonuç veren koloniler ise *Legionella* dışı koloniler olarak kabul edildi (16,75,146).

Biyokimyasal deney olarak; BCYE agarda üreyen bakteri kolonilerinden steril öze yardımı ile bir öze dolusu kültür alınarak, oksidaz ayırıcı damlatılmış olan steril filtre kağıdı üzerine koyulup hafifçe karıştırılır. 5-10 saniye içinde koyu mor-mavi rengin oluşması oksidaz negatif sonuç olarak değerlendirilir. Katalaz testi için ise aynı yöntemle bir öze dolusu kültür alınarak, temiz bir lam üzerinde distile su ile süspansiyon edilir. Süspansiyon üzerine bir öze dolusu %30'luk H₂O₂ eklenerek karıştırılır. Karışımda birkaç saniye içinde hava kabarcıklarının oluşumu katalaz pozitif sonuç olarak değerlendirilir (140,141).

BCYE agarda üreme gözlenip, kanlı agarda ise üremenin gözlenmemesi sonucundan yola çıkarak tür ve serogruplarının tanımlanması amacıyla kullanılan latex aglütinasyon testi yapılması amaçlandı (146).

Latex Aglütinasyon Test Kitinin Uygulanması;

Kit içerisinde bulunan 50 testlik kartlarına *L. pneumophila* serogrup 1, *L. pneumophila* serogrup 2-14 ve *Legionella* spp. reaktiflerinden damlatıldı. Pozitif, negatif kontrollerden ve kontrol latex süspansiyonundan birer damla dikkatlice damlatıldı. İlk dört bölmenin boş kısmına damlaları karıştırmadan süspansiyon tampon damlatıldı.

Test kitinin kullanımından önce kontrol amacıyla pozitif sonuç veren *Legionella* kültüründen birkaç koloni alarak otoaglütinasyon oluşturup oluşturmadıklarını test etmek için; bölmenin kenarına damlatılan pozitif kontrol serumları ile homojen hale getirilir. Otoaglütinasyon oluşmadığından emin olunduktan sonra süspansiyon test reaktifleri ile karışım

sağlandı. Bir dakika içerisinde mavi renkte aglütinasyon reaksiyonu gerçekleşip gerçekleşmediği gözlemlendi. 1 dakikadan daha fazla sürede aglütinasyon veren örneklerin sonuçları negatif reaksiyon olarak kabul edilmiştir. Bölmelerde gerçekleşen pozitif aglütinasyon tespitinden sonra, bakteri süspansiyon tamponu ve kontrol latex ile karıştırıldı (OXOID, DR0800M, İngiltere) (139).

4. BULGULAR

Çalışmamız Nisan-Ekim 2017 tarihleri arasında Kahramanmaraş il merkezinde bulunan 35 caminin; su depolarından, şadırvan ve lavabo musluklarından su örnekleri, depo sularının tahliye musluk başlıkları, şadırvanın musluk başlıkları ve klima filtrelerinden sürüntü örnekleri alınmıştır. Çalışmanın laboratuvar analizleri Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Kahramanmaraş il merkezinde bulunan 35 camiden alınan; 10 depo suyu örneği, 40 musluk suyu örneği ve 50 klima sürüntü örneğinin *L. pneumophila* varlığı açısından negatif sonuç elde edilmiştir. 130 depo tahliye muslukları ve şadırvan musluklarının sürüntü örneğinden ise %4.5 *Legionella* cinsi bakteri tespit edilmiştir. Örnek alınan camilerin 3 tanesinden ise 6 adet *Legionella* spp. izole edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Camilerden izole edilen *L. pneumophila*'nın kaynağına göre dağılımı

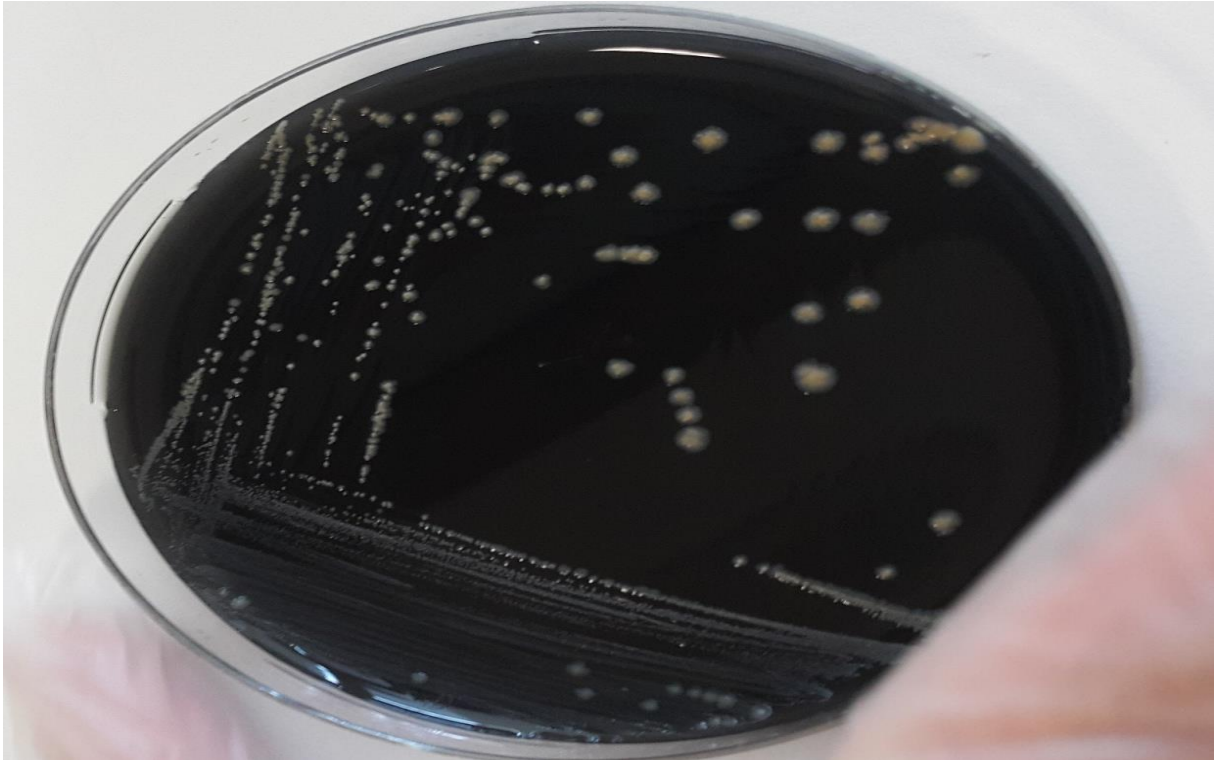
Örnek Kaynağı	Alınan Toplam Örnek Sayısı	<i>Legionella</i> Cinsi Bakteri İzole Edilen Örnek Sayısı
Depo Suyu	10	-
Musluk Suyu	40	-
Musluk Sürüntüsü	130	6 (%4,5)
Klima Sürüntüsü	50	-
Toplam	230	6(%2,5)

Serolojik Bulgular:

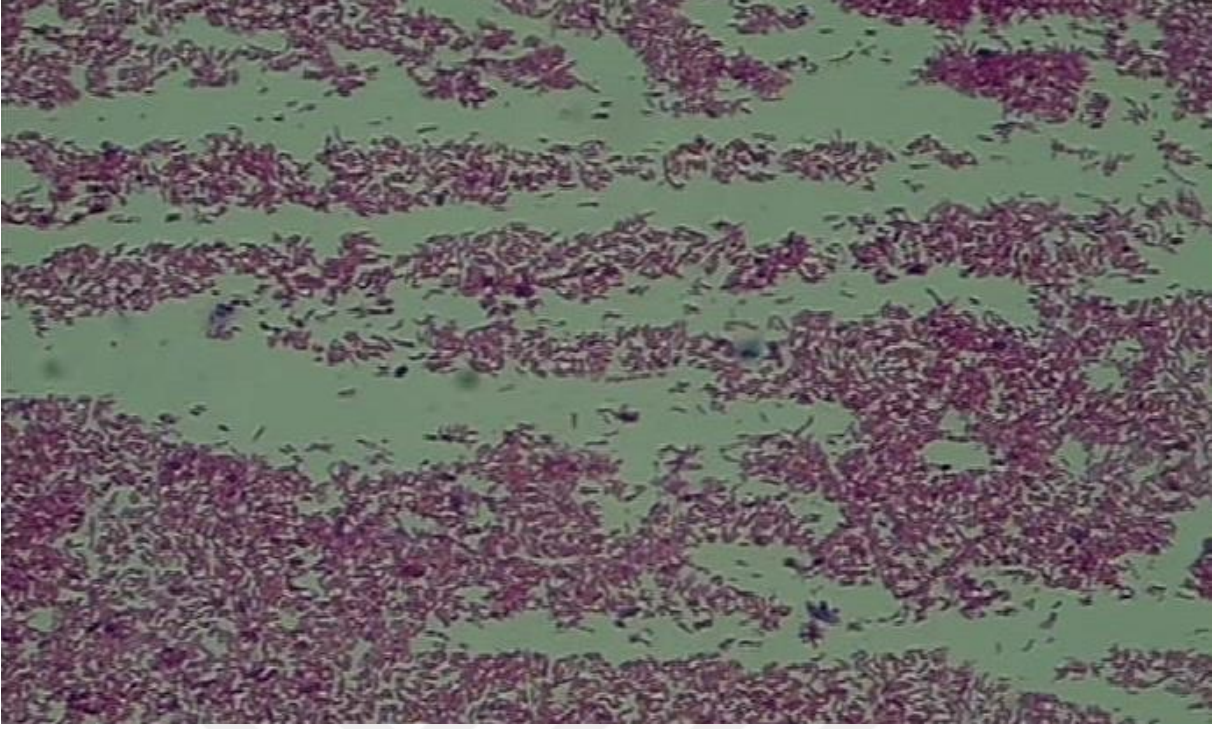
Alınan toplam 230 örneğin, 6'sında üreyen *Legionella* spp. kültüründe yapılan lateks aglütinasyon testi sonucu 1 (%0.4)'inin *L. pneumophila* serogrup 1 olduğu, 3 (%1.3)'ünün *L. pneumophila* serogrup 2-14 ve 2 (%0.8)'sinin ise *L. pneumophila* spp. olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: *L. pneumophila* serogruplarının örneklere göre dağılımı

Camilerden Alınan Örnek Kaynağı	Alınan Toplam Örnek Sayısı	<i>Legionella pneumophila</i> İzole Edilen Örnek Sayısı	<i>Legionella</i> Serogrupları		
			Serogrup 1	Serogrup 2-14	Cins Düzeyinde
Depo Suyu	10	-	-	-	-
Musluk Suyu	40	-	-	-	-
Musluk Sürüntüsü	130	6(%4.5)	1(%0.7)	3(%2.3)	2 (%1.5)
Klima Sürüntüsü	50	-	-	-	-
Toplam	230	6(%2.5)	1(%0.4)	3(%1.3)	2(%0.8)



Şekil 1. BCYE agara pasaj yapılmış *L. pneumophila* kolonilerinin görünümü



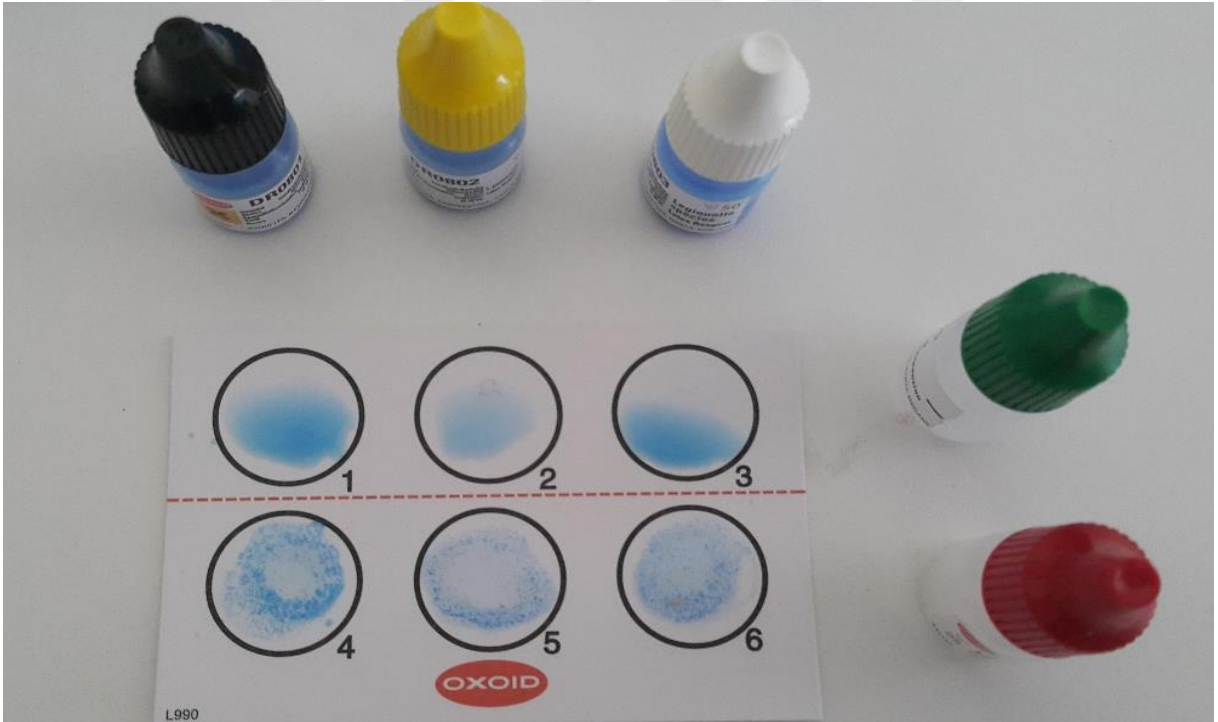
Şekil 2. Gram negatif ince çomak şeklinde görülen *L. pneumophila* bakterileri (ışık mikroskobu, 100'lük objektif)



Şekil 3. *L. pneumophila*'ya ait katalaz pozitif reaksiyonu



Şekil 4. *L. pneumophila* serogruplandırma için kullanılacak olan Latex Test Kitinin içeriği



Şekil 5. İzole edilen *Legionella* cinsi bakterilere uygulanan Latex Aglütinasyon Test sonuçları (1,2,3) Negatif kontroller; (4) *L. pneumophila* serogrup 1 reageni ile pozitif reaksiyon; (5) *L. pneumophila* serogrup 2-14 reageni ile pozitif reaksiyon; (6) *Legionella* spp. reageni ile pozitif reaksiyon

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Legionella spp.; akarsular, nehirler, göller, göletler ve termal havuzlar gibi doğal su çevrelerinde ve nemli toprak kaynaklarında çok yaygın olarak bulunmaktadır. Bu spesifik mikroorganizmalar özellikle nemli ortamlarda, yüksek sıcaklık seviyesinde ve değişken pH seviyesinde canlılığını tüm zorlu şartlara rağmen koruyabilme özelliğine sahiptir. Ayrıca yüksek oranda klora direnç gösterdiğinden çeşitli su kaynak sistemlerine rutin olarak yapılan klorlama işlemi de bu mikroorganizmaların yok olmasını sağlayamamaktadır (5). Bu zorlu şartlara karşı direnç göstermesinin en temel nedeni; sıcak ve soğuk su sistemlerindeki biyofilm tabakasına yerleşip canlılığını sürdürerek, üreyebilmeleridir. Bunun yanısıra serbest yaşayan protozoaların hücre içi paraziti olarak çağalmayı sağlayıp enfeksiyon oluşturabilmeleridir (6).

Legionella türlerinin yapay su sistemleri içerisinde kolonize olmasında; suyun durağanlığı, sıcaklığı, kommensal mikroflora, sedimentlerin toplanması ve biyofilm tabakasının oluşması en önemli rol oynamaktadır (2,3).

Binaların yapısı, yapay su sisteminin yapısı, suyun içeriği ve coğrafi konum farklılıkları gibi sebeplerden kaynaklı, bugüne kadar yapılan çalışmaların sonuçlarının farklılık göstermesinde etkin faktörler olarak sayılabilir (147,148).

Araştırmalar doğrultusunda soğutma kuleleri ve klima tarafından suyu aerosolize ederek ortama aerosoller içerisinde hava akımları ile birlikte başta *Legionella* spp. olmak üzere tüm mikroorganizmaların 1.6 km'den fazla hızla ortamlara salındığı belirtilmiştir (46). Aerosolizasyon aracılığıyla bulaş olacak *Legionella* spp. içeren suyun aerosol partikülleri (1-5 µm) boyutta olmalıdır. *Legionella* spp. aerosol partikülleri ile birlikte minimum 2 saat canlılığını koruyabilirler (47,48).

Legionella cinsi bakteriler, solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabilen aerob, Gram negatif basillerdir. *Legionella* cinsi bakteri yaklaşık 50'den daha fazla tür ve 70 serotip içerir; 20 türün insanda enfeksiyon yaptığı bilinmektedir (1).

Legionella cinsine ait türlerden *L. pneumophila* bakterisinin 16 serotipi olup, bunların içerisinde en çok izole edilen ve Lejyoner hastalığına yol açan *L. pneumophila* serogrup 1'dir (1,3,4).

L. pneumophila; bireylerde Lejyoner hastalığı (pnömonili ateşli hastalık), Pontiac ateşi (pnömonisiz ateşli hastalık) ve asemptomatik enfeksiyonlar olarak kendini göstermektedir (9). Özellikle; sigara kullanımı, kronik akciğer hastalığı, kronik kalp hastalığı, ileri yaşta olma ve immünitenin baskılanmış olması başta Lejyoner hastalığı olmak üzere diğer pnömoniler için başlıca risk faktörleridir. Bunlara ek olarak aşırı alkol tüketimi, böbrek yetmezliği, hematolojik malignansiler, diyabet ve erkek cinsiyet de bu pnömoni enfeksiyonları için risk faktörleri olarak belirtilebilir (6).

Özellikle yüksek sıcaklık seviyelerinde dahi canlı kalabilme özelliği Kahramanmaraş bölgesinde bulunan yerli ve yabancı turistler tarafından devamlı ziyaret edildiği kaplıcalarda büyük risk oluşturduğunu öznel bir yorum olarak belirtmekteyiz. Ayrıca Kahramanmaraş sınırları içerisinde *L. pneumophila* izolasyonu açısından yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Daha sonraki araştırmalarımızda kaplıca vb. sıcak su kaynaklarını araştırmayı planlamaktayız.

Çevreden alınan örneklerin çalışılma aşaması olarak, *Legionella* cinsi bakteri izolasyonunda standart bir yöntem bulunmamaktadır. Araştırmacılar örneklerin toplanması, konsantrasyonu, dekontaminasyonu ve bakteriyolojik kültür elde edilmesi açısından farklı çalışma yöntemleri uygulayıp farklı sonuçlar elde etmiştir (67).

Çalışmamızda 35 camide bulunan; 10 depo suyu, 40 musluk suyu, 50 klima sürüntüsü ve 130 musluk sürüntüsü olmak üzere toplam 230 örnek çalışılmıştır. Kahramanmaraş il merkezindeki camilerden alınan su ve sürüntü örnekleri *Legionella* türü bakteri açısından incelenmiştir. Önemli sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamız için camileri seçmekteki en temel amacımız, bölgedeki camileri kullanan bireylerin genel olarak ileri yaşta ve erkek bireylerin olması nedeni ile fırsatçı bir bakteri olan *Legionella* açısından potansiyel risk grubu olmasıdır.

Örneklerin alınması aşamasının oldukça steril gerçekleşmesi çalışmanın şeffaflığını arttırmıştır. Kısa sürede laboratuvara getirilip bakterilerin su ve sürüntü içerisinde canlılığını kaybetmeden ekim yapılması sonuçların verimli olmasında katkıda bulunmuştur.

İdentifikasyon sonucu; 10 depo suyu örneği, 40 musluk suyu örneği ve 50 klima sürüntü örneğinin *L. pneumophila* varlığı açısından negatif sonuç elde edilmiştir. 130 depo tahliye muslukları ve şadırvan musluklarından alınan sürüntü örneğinden ise %4.5 *L. pneumophila* bakterisi tespit edilmiştir. Örnek alınan camilerin 3 tanesinden ise 6 adet *L. pneumophila* izole edilmiştir (Tablo 1).

Çalışma süresinde, bölgedeki birçok caminin şebeke suyu kullandığı tespit edilmiştir. Tablo 1’de belirttiğimiz gibi depo suyu ve şebeke suyunda *Legionella* varlığına rastlanmamıştır. Ayrıca çalışmamızda belirttiğimiz tarihlerde havaların henüz sıcak olmamasından dolayı birçok camide klimalar çalıştırılmamaktaydı, bundan dolayı az sayıda örnek alınmıştır. Aldığımız klima sürüntü örneklerinde ise *Legionella* açısından negatif sonuç elde edilmiştir.

Depolardaki tahliye musluklarından alınan toplam 10 su örneğine paralel olarak aynı musluklardan aralarında olası bir ilişki varlığını saptamak amacıyla 10 sürüntü örneği alınmıştır. Su örneklerinin incelenmesi sonucu negatif sonuçlanmasına karşın aralarından 1 adet sürüntü örneğinin muslukta oluşturduğu biyofilm tabakası sayesinde canlılığını koruyabilme yeteneğinden kaynaklanarak pozitif sonuç elde edilmiştir. Böylece yalnızca su örneğinin *Legionella* varlığını saptama açısından yeterli bir kaynak olarak görülmemesi gerektiği düşünülmüştür.

Literatürde, Pınarbaşı’nın 2011 yılında sürüntü örneklerinden elde ettiği sonuçlar ile uyumlu olarak izole ettiği kültürleri *Legionella* yönünden araştırması sonucu, sürüntü örneklemesinin su örneklemesinden daha iyi sonuç verdiği gösterilmiştir (132). Çevresel örneklerden *Legionella* açısından araştırma yapılırken, su örneklerinin yanısıra sürüntü örneklerinin de eşzamanlı olarak alınması pozitif sonuç olasılığını ciddi oranda arttıracığı düşünüldü.

Literatürde birçok kaynakta kullanılan, filtrasyon ile konsantrasyon ve sonrasında asit ile muamele işlemlerine gerek duymadan sürüntü örneklerinde direkt ekim yönteminin uygulanması izolasyon verimliliğini arttıran bir yöntem olarak önerilmiştir. Bu çalışmada ise filtrasyon yerine santrifüj ile çöküntü kısmında direkt kültür işlemi uygulanmıştır.

Bulgularımız, Türkiye'nin farklı birçok coğrafi bölgelerindeki şehirlerde birçok araştırmacı tarafından yapılmış önceki literatürdeki çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Örneğin; Gaziantep ilinde 2013 yılında bölgedeki okul, hastane ve otellere ait su ve sürüntü örnekleri olmak üzere 313 örnek çalışılmış ve 74 tanesi *L. pneumophila* serogrup 2-14, 19 tanesinde *L. pneumophila* serogrup 1 izole edilmiştir (149).

İstanbul'da 2011 yılında 61 evden alınan su ve sürüntü örneklerinin incelenmesi sonucu 11'i *L. pneumophila* serogrup 2-14, 2'si *L. pneumophila* serogrup 1 identifiye edilmiştir (133). Yine 2011 yılında Eskişehir'de hastanelerden alınan 200 su ve sürüntü örneği çalışılmış, 23 tanesi *L. pneumophila* serogrup 2-14, 6 tanesi ise *L. pneumophila* serogrup 1 olarak tiplendirilmiştir (132).

Alanya'da 2009 yılında bölgedeki otelde konaklayan bir kişinin vefat etmesi sonucu çalışmalar başlatılmış, otelin çeşitli bölgelerinden alınan 13 örnekte 11 *Legionella* spp. izole edilmiştir (131).

Kayseri ilinde ise 2008 yılında bölgedeki hastane, okul, otel ve meskenden alınan toplam 120 örneğin *Legionella* yönünden araştırılması sonucu, 2'si *Legionella* spp., 6'sı *L. pneumophila* serogrup 1 olmak üzere 8 *Legionella* cinsi bakteri izole etmiştir (130).

Yurt dışında, 1980 ile 2009 yılları arasında yapılan birçok çalışma incelendiğinde hastanelerden, otellerden, meskenlerden alınan örneklerin çalışılması sonucu *Legionella* cinsi bakteri varlığı açısından ciddi sonuçlar elde edilmiştir (62-115)

Ülkemizde başta İstanbul'da yapılmış birçok çalışma olmak üzere; Antalya, İzmir, Sivas, Malatya, Kayseri, Eskişehir, Gaziantep illerinde araştırmalar yapılmıştır. Bu şehirlerde genel olarak hastanelerin, binaların veya otellerin su sistemleri temel alınmış fakat çalışmalarda camilere yer verilmemiştir.

Çalışmamızda, otellerin ticari kaygılarından dolayı otel örnekleri alınamadığından çalışma alanını yalnızca camilerle sınırlandırmamıza rağmen önemli sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmamız, Kahramanmaraş ili ile camilerde *Legionella* izolasyonu yönünden ilk çalışma özelliğindedir. Daha geniş kapsamlı bölgelerde, geniş kapsamlı araştırma araçları kullanılarak genotip ve fenotipleri araştırılmalıdır.

Sonuç olarak, yurt dışı ve yurt içinde yapılan çalışmalarla paralellik gösteren sonuçlarımız doğrultusunda, toplu yaşam alanları olarak kullanılan camilerde bulunan musluk başlıklarında oluşan biyofilm tabakalarından arındırılması, *Legionella* rezervuarlarının indirgenmesi açısından büyük önem arz etmektedir. Ayrıca su dağıtım sistemlerinin dezenfeksiyon işlemleri sayesinde ile kontamine olmuş suların arındırılması mümkündür. *L. pneumophila* izole edilen kurumların su sistemleri dekontamine edilene kadar, kaynağın kullanmaması gerekir veya steril su kullanılması önerilir.

Kaynakça

1. Fields BS, Benson RF, Besser RE. *Legionella* and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. Clin Mikrobiol Rev 2002; 15(3): 506-526.
2. Abu Kwaik Y, Gao LY, Stone BJ, Venkataraman C, Harb OS. Invasion of protozoa by *Legionella pneumophila* and its role in bacterial ecology and pathogenesis. Appl Environ Microbiol 1998; 64(9): 3127-33.
3. Surman-Lee S, Fields B, Hornei B, et al. Ecology and environmental sources of *Legionella*, pp: 29-38. In: Bartram J, Chartier Y, Lee JV, Pond K, Surman-Lee S (eds), Legionella and the Prevention of Legionellosis. 2007. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
4. Helbig JH, Bernander S, Castellani Pastoris M, et al. Pan-European study on culture-proven Legionnaires' disease: distribution of *Legionella pneumophila* serogroups and monoclonal subgroups. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21(10): 710-6.
5. Diederens BMW. *Legionella* spp. and Legionnaires' disease. Journal of Infection 2008; 56: 1-12.
6. Yu VL. *Legionella pneumophila* (Legionnaires' disease). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (eds). Principles and Practise of Infectious Diseases. 5th ed. US: Churchill Livingstone; 2000; 2424-2435.
7. Mülazimoğlu L. *Legionella* (Lejyoner Hastalığı). In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002; 1667-1670.
8. Bell M. Legionella. In: Wilson WR, Sande MA. (eds). Current Diagnosis and Treatment in Infectious Disease. International ed. Lange Medical Books. Mc Graw-Hill Inc. 2001; 58: 614-619.
9. Eberly BJ, Whelen AC. *Legionella*. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. (eds). Textbook of Diagnostic Microbiology. Elsevier 2007; 485-493.
10. Edelstein PH. Urine antigen tests positive for Pontiac fever: implications for diagnosis and pathogenesis. Clin Infect Dis 2007; 44(2): 229-31.
11. The European Working Group for *Legionella* Infections. Available at: <http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/ELDSNet/Pages/Index.aspx>
12. Alary, M., Joly, J.R. Factors Contributing to the Contamination of Hospital Water Distributin on Systems by *Legionella*. J Infect Dis. 1992; 165, 565-569.

13. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR. Legionnaires' disease: Isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Engl J Med* 1977; 297: 1197-203.
14. Stout JE, Rihs JD, Yu VL. *Legionella*. In: Murray PR. (ed). *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington DC: ASM Pres; 2003; 809-823.
15. Dowlig JN, Saha AK, Glew RH. Virulence factors of the family *Legionellaceae*. *Microbiol Rev* 1992; 56: 32-60.
16. Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop G, Schreckenberger PC, Woods G. (eds). *Legionella*. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott; 2006; 549-565.
17. Zumsan T, Yenushalmi G, Segal G. Functional similarities between the 1cm/dot pathogenesis systems of *Coxiella burnetii* and *L. pneumophila* *Infect Immun* 2003; 71: 3714-3723.
18. Edelstein PH. *Legionella*. In: Murray PR. (ed). Pınar A. (çev.ed). *Klinik Mikrobiyoloji*. 9. baskı. Cilt 1. Ankara: Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. 2009; 53: 835-849.
19. Benson RF, Fields BS. Classification of the genus *Legionella*. *Semin Respir Infect* 1998; 13: 90-9.
20. Chandler, F.W., Cole, R.M., Et al. Ultrastructure of the Legionnaires' disease bacterium. A study using transmission electron microscopy. *Ann Intern Med*. 1979; 90, 642-647.
21. Rodgers, F.G., Greaves, P.W., Macrae, A.D. Flagella and fimbriae on *Legionella* ororganisms. *The Lancet*. 1979; 2, 753-754.
22. Rodgers, F.G., Greaves, P.W., et al. Electron microscopic evidence of flagella and pili on *Legionella pneumophila*. *J Clin Pathol*. 1980; 33, 1184-1188.
23. Stone, B.J., Abu Kwaik, Y. Expression of multiple pili by *Legionella pneumophila*: identification and characterization of a type IV pilin gene and its role in adherence to mammalian and protozoan cells. *Infect Immun*. 1998; 66, 1768-1775.
24. Harrison, T.G., *Legionella*, Topley and Wilsons Microbiology and microbial Infections 10th Edward Arnold (publishers) Ltd. London. pp 2006; 1761-1785.
25. Inoue, H., Kawano, G., Nagasawa, H., Sakuda, S. Isolation of elemental sulfur as a self-growth-inhibiting substance produced by *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol*. 2002; 68 (10), 4809-4811.
26. Muller, H.E. Enzymatic profile of *Legionella pneumophil*. *J Clin Microbiol*. 1981; 13 (3), 423-426.

27. Steinert, M., Hentschel, U., Hacker, J. *Legionella pneumophila*: an aquatic microbe goes astray. *FEMS Microbiology Reviews*. 2002; 26, 149-162
28. Hsu, S. C., Martin, R., Wentworth, B. B. Isolation of *Legionella* species from drinking water. *Appl Environ Microbiol*. 1984; 48 (4), 830-832.
29. Stout, J.E., Yu, V.L., Yee, Y.C., Vaccarello, S., Diven, W., Lee, T.C. *Legionella pneumophila* in residential water supplies: Environmental surveillance with clinical assesment for Legionnaires' disease. *Epidemiol Infect*. 1992; 109, 49-57.
30. Kuchta JM, States SJ, McNamara AM. et al. Susceptibility of *Legionella pneumoniae* to chlorine in tap water. *Appl Environ Microbiol*. 1983; 49: 1134.
31. Verissimo A, Marrao G. et al. Distribution of *Legionella* spp. in hydrothermal areas in continental Portugal and the island of Sao Miguel, Azores. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57: 2921-2927.
32. Filermans CB. and Tyndall RL. Association of *Legionella pneumophila* with natural ecosystem. In: Barbaree, J.M., Breiman, R. And Dufour, A.P. (eds), *Legionella*: current status and emerging perspectives. Washington, DC: ASM 1993; pp 284-285.
33. Tuğrul HM. *Legionella* türleri. İçinde Serter D, Ertem E, Gökengin D, editörler. *Başlıca Bakteriyel, Paraziter ve Mikotik Enfeksiyon Hastalıkları*. İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000; s. 308-312.
34. Breiman, R.F., Fields, B.S., Sanden, G.N., Wolmer, L., Meier, A., Spika, J.S. Association of Shower use with Legionnaires' Disease. *JAMA*. 1990; 263 (21), 2924-2926.
35. Wintermayer, E., Rdest, U., Ludwig, B., Debes, A., Hacker, J. Characterization of Legiolysin (lly), Responsible for Haemolytic Activity, Colour Production and Fluorescence of *Legionella pneumophila*. *Mol Mic*. 1991; 5 (5), 1135-1143.
36. Yu VL. *Legionella pneumophila* (Legionnaires' disease) Mandel GL, Bennett JE, Dolin R., eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th ed. Churchill Livingstone Inc, New York. 1995; pp 2087-97.
37. Baron, E.J., Tenover, S.M. (1990) Unclassified or Unusual but Easily Cultivated Etiologic Agents of Infectious Disease, p.578-583. 8th Edition, Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, C.V. Mosby Company.
38. Akbaş, E. *Legionellaceae*; Intracellüler Parazitizm. *Mikrobiyol Bolt*, 1996; 30, 313-322.
39. Toze, S., Sly, L.I., Macrae, L.C., Fuerst, J.A. Inhibition of Growth of *Legionella* Species by Heterotrophic Plate Count Bacteria Isolated from Chlorinated Drinking Water. *Cwr Microbiol*. 1990; 21, 139-143.

40. Pınar A. Doğa kaynaklı insan patojeni *Legionella*; tanı ve korunma yaklaşımları. *Hacettepe Tıp Derg*; **33**(2): 93-98.
41. CRAMER, M., 2003, Legionnaire's disease: A case study, *American Journal of Critical Care*, 12(3) 234-238.
42. Vural T, Er D. *Legionella* türlerinin mikrobiyolojik özellikleri ve laboratuvar tanısı. *Flora* 1999; 4(1): 9-25.
43. Çotuk, A., Zeybek, Z., Kimiran, A., Türetgen, İ., Kalaç, Y. Farklı binaların su sistemlerinde *Legionella pneumophila* izolasyonu. *Kükem Derg*. 1998; 21(3), 7-12.
44. Aktova M. Lejyoner Hastalığı. İçinde Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editörler. *İnfeksiyon Hastalıkları*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1996; s. 393-396.
45. Yu VL. *Legionella pneumophila* (Legionnaires' Disease). Mandel GL, editor. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. US: Churchill Livingstone; 2000; pp. 2424-2435.
46. Hlady WG, Mullen RC, et al. Outbreak of Legionnaire's disease linked to a decorative fountain by molecular epidemiology. *Am J Epidemiol* 1993; 138: 55-562.
47. Memish ZA, Oxley C. et al. Plumbing system shock absorber as a source of *Legionella pneumophila*. *Am J Infect Control* 1992; 20: 305-309.
48. Baskerville A, Fitzgeorge RB, et al. Histopathology of experimental Legionnaires' disease in guinea pigs, rhesus monkeys and marmosets. *J Pathol* 1983; 139: 349-362.
49. Brabender W, Hinthorn DR, Asher M. *Legionella pneumophila* wound infection. *JAMA* 1993; 250: 3091-5.
50. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. (eds). *Medical Microbiology*. 4th ed. US: Mosby, Inc; 2002; 35: 325-329.
51. Mc Nally C, Hackman B, Fields BS, Plouffe JF. Potential importance of *Legionella* species as etiologies in community-acquired pneumonia (CAP). *Diagn. Microbiol. Infect.* 2000; 38: 79-82.
52. Doleans A, Aurell H, Reyrolle M, Lina G, Freney J, Verdenesch F, Etienne J, Jarraud S. Clinical and environmental distributions of *Legionella* strains in France are different. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42: 458-460.
53. Forbes AB, Sahm DF, Weissfeld AS. (eds). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* 12th ed. US: Mosby, Inc; 2007; 37: 424-429.
54. Erdem B. *Legionella*. İçinde Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999; s. 559-566.

55. Stout JE, Rihs JD, Yu VL. *Legionella*. _çinde Murray PR, editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington DC: ASM Pres; 2003; pp: 809-823.
56. Skerret SJ. Host defenses against respiratory infection. *Med Clin N Am*. 1994; 78: 941.
57. Sopena N, Sabria-Leal M. et al. Comparative study of the clinical presentation of *Legionella pneumonia* and other community-acquired pneumonias. *Chest* 1998; 113: 1195-2000.
58. Mayaud C. and Dournon E. Clinical features of Legionnaires' disease. In: Harrison, T.G. and Taylor, A.G. (eds), *A laboratory manual for legionella*. Chichester: Jhon Wiley & Sons 1988; 5-11.
59. Agullo-Ortuno MT, Garcia-Mancebo ML, Montes-Ares O, Noguera-Velasco JA. Biochemical and immunologic features of an outbreak of Legionnaires disease: comparative study between community-acquired pneumonias. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 56(1): 7-11.
60. Mülazimoğlu L. *Legionella* (Lejyoner Hastalığı). İçinde Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editörler. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002; s. 1667-1670.
61. Winn WC, Koneman EW, Stephen DA, Gary WP, Janda WM, Schreckenberger PC, Woods GL. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
62. Stout JE, Yu VL. Nosocomial *Legionella* Infection. İçinde Mayhall CG, editor. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. 3rd ed. US: Williams and Wilkins; 2004; pp. 603-621.
63. Tablan OC, Anderson LJ, Besser R, Bridges C, Hajjeh R. Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003; recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm Rep* 2004; 53: 1-36.
64. Akalin, H.E. Atypical pneumonias: Therapeutic possibilities. *Int J Antimicrob Agents* 1993; 3, 75.
65. Heath CH, Grove DI, Looke DF. Delay in appropriate therapy of *Legionella* pneumonia associated with increased mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15(4): 286-290.
66. Ta AC, Stout JE, Yu VL, Wagener MM. Comparison of culture methods for monitoring *Legionella* species in hospital potable water systems and recommendations for standardization of such methods. *J Clin Microbiol* 1995; 33 (8): 2118-2123.

67. Bartie C, Venter SN, Nel LH. Identification methods for *Legionella* from environmental samples. *Wat Res* 2003; 37: 1362-1370.
68. Bopp CA, Sumner JW, Morris GK, Wells JG. Isolation of *Legionella* spp. from environmental water samples by low-pH treatment and use of a selective medium. *J Clin Microbiol*; 13(4): 714-719.
69. Feely JC, Gorman GW, Weaver RE, Mackel DC, Smith HW. Primary isolation media for Legionnaires' disease bacterium. *J Clin Microbiol* 1978; 8(3): 320-325.
70. Feeley JC, Gibson RJ, Gorman GW, Langford NC, Rasheed JK, Mackel DC, Baine WB. Charcoal- yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 1979; 10(4): 437-441.
71. Maiwald M, Helbig JH, Lück PC. Laboratory methods for the diagnosis of *Legionella* infections. *J Microbiol Meth* 1998; 33: 59-79.
72. Fields BS, Benson RF, Besser RE. *Legionella* and legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15(3): 506-526.
73. Vickers RM, Brown A, Garrity GM. Dye-containing buffered charcoal yeast extract medium for differentiation of members of the family *Legionellaceae*. *J Clin Microbiol* 1981; 13(2): 380-382.
74. Nakipoğlu Y. İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesinde kullanılan sularda *Legionella* cinsi bakterilerin araştırılması, Doktora tezi, İstanbul Tıp Fakültesi 1999.
75. Wilkinson HW, Fikes BJ. Slide agglutination test for serogrouping *Legionella pneumophila* and atypical *Legionella*-like organisms. *J Clin Microbiol* 1980; 11(1): 99-101.
76. Fox A, Lau PY, Brown A, Morgan SL, Zhu ZT, Lema M, Walla MD. Capillary gas chromatographic analysis of carbohydrates of *Legionella pneumophila* and other members of the family *Legionellaceae*. *J Clin Microbiol* 1984; 19(3): 326-332.
77. Stout JE, Rihs JD, Yu VL. *Legionella*. İçinde Murray PR, editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington DC: ASM Pres; 2003; pp. 809-823.
78. Bangsberg JM, Gerner-Smidt P, Colding H, Fiehn NE, Bruun B, Hoiby N. Restriction fragment length polymorphism of rRNA genes for molecular typing of members of the family *Legionellaceae*. *J Clin Microbiol* 1995; 33(2): 402-406.
79. Van Belkum A, Maas H, Verbrugh H, Van Leeuwen N. Serotyping, ribotyping, PCR-mediated ribosomal 16S-23S spacer analysis and arbitrarily primed PCR for epidemiological studies on *Legionella pneumophila*. *Res Microbiol* 1996; 147(5): 405-413.

- 80.** Whitney CG, Hofman J, Pruckler JM, Benson RF, Fields BS, Bandyopadhyay U, Donnally EF, Giorgio-Almonte C, Mermel LA, Boland S, Matyas BT, Breiman RF. The role of arbitrarily primed PCR in identifying the source of an outbreak of Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 1997; 35(7): 1800-1804.
- 81.** Vonberg RP, Eckmanns T, Bruderek J, Rden H, Gastmeier P. Use of terminal tap water filter systems for prevention of nosocomial legionellosis. *J Hosp Infect* 2005; 60:159-162.
- 82.** Kim BR, Anderson JE, Mueller SA, Gaines WA, Kendall AM. Literature review efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems. *Water Res* 2002; 36: 4433-4444.
- 83.** Kool JL. Control of *Legionella* in drinking water systems: impact of monochloramine. In: Marre R (ed) et al. *Legionella*. Washington, DC: ASM Press 2002; 411-418.
- 84.** Franzin L, Cabodi D, Fantino C. Evaluation of the efficacy of ultraviolet irradiation for disinfection of hospital water contaminated by *Legionella*. *J Hosp Infect* 2002; 51:269-274.
- 85.** Stout JE, Yu VL. Experiences of the first 16 hospitals using copper-silver ionization for *Legionella* control: Implications for the evaluation of other disinfection modalities. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 21(8): 563-568.
- 86.** Tobin JO, Swann RA and Bartlett CL. Isolation of *Legionella pneumophila* from water systems: methods and preliminary results. *Br med J* 1981; 282: 515-517.
- 87.** Kurtz, J.B., Bartlett, C.L.R., White, R.A., Newton, U.A., Jones, N.L. *Legionella pneumophila* in Cooling Water Systems. *J. Hyg., Camb.* 1996; 88, 369
- 88.** Edelstein, P.H. Comparative study of selective media for of *Legionella pneumophila* from potable water. *J Clin Microbiol.* 1982; 16, 697-699.
- 89.** Barbaree, J.M., Fields, B.S., et al. Isolation of protozoa from water associated with a legionellosis outbreak and demonstration of intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* 1986; 51, 42-424.
- 90.** Vickers, R.M., Yu, V.L., Hanna, S.S., Muraca, P., Diven, W., Carmen, N., Taylor, F.B. Determinants of *Legionella pneumophila* Contamination of Water. Distribution Systems: 15-Hospital Prospective Study. *Infect Control.* 1987; 8 (9), 357-363.
- 91.** Lee, T.C., Stout, J.E., Yu, V.L. Factors Predisposing to *Legionella pneumophila* Colonization in Residential Water Systems. *Arch Environ Heal.* 1988; 43 (1), 59-62.
- 92.** Alary, M., Joly, J.R. Risk Factors for Contamination of Domestic Hot Water Systems by *Legionellae*. *Appl Environ Microbiol.* 1991; 57 (8), 2360-2367.

93. Nahapetian, K., Challemel, O., Beurтин, D., Dubrou, S., Guonon, P., Squanizi, F. The Intracellular Multiplication of *Legionella pneumophila* in Protozoa from Hospital Plumbing Systems. *Res Microbiol.* 1991; 142, 677-685.
94. Stout, J.E., Yu, V.L., Yee, Y.C., Vaccarello, S., Diven, W., Lee, T.C. *Legionella pneumophila* in residential water supplies: Environmental surveillance with clinical assesment for Legionnaires' disease. *Epidemiol Infect.* 1992; 109, 49-57.
95. Alary, M., Joly, J.R. Factors Contributing to the Contamination of Hospital Water Distributin on Systems by *Legionella*. *J Infect Dis.* 1992; 165, 565-569.
96. Reinthaler FF, Sattler J, Schaffler-Dullnig K, Weinmayr B, Marth E. Comparative study of procedures for isolation and cultivation of *Legionella pneumophila* from tap water in hospitals. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1213-1216.
97. Zacheus OM, Martikainen PJ. Occurrence of *legionellae* in hot water distribution systems of Finnish apartment buildings. *Can J Microbiol* 1994; 40(12): 993-999.
98. Asbjorn J, Andersen HK. *Legionella pneumophila* in the hot water system of Danish hospitals and institutions. A questionnaire study and a random sample test. *Ugeskr Laeger* 1995; 157(5): 586-590.
99. Lasheras A, Boulestreau H, Rogues AM, Ohayon-Courtes C, Labadie JC, Gachie JP. Influence of amoebae and physical and chemical characteristics of water on presence and proliferation of *Legionella* species in hospital water systems. *Am J Infect Control* 2006; 34: 520-525.
100. Atlas RM, Williams JM, Huntington MK. *Legionella* contamination of dental-unit waters. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61: 1208-1213.
101. Knirsch AC, Jakob K, Schoonmaker D, Kiehlbauch JA, Wong SJ, Della-Latta P, Whittier S, Layton M, Scully B. An outbreak of *Legionella micdadei* pneumonia in transplant patients: evaluation, moleculer epidemiology and control. *Am J Med* 2000; 108: 290-295.
102. Hackman, B.A., Plouffe, J.F., et al. Comparison of Binax Legionella Urinary Antigen EIA kit with Binax RIA urinary Antigen kit for detection of *Legionella pneumophila* serogrup 1 antigen. *J Clin Microbiol.* 1996; 34, 1579-1580.
103. Leoni E, De Luca G, Legnani PP, Sacchetti R, Stampi S, Zanetti F. *Legionella* waterline colonization: detection of *Legionella* species in domestic, hotel and hospital hot water systems. *J Appl Microbiol* 2005; 98: 373-379.
104. Leoni E, Legnani PP. Comparison of selective procedures for isolation and enumeration of *Legionella* species from hot water systems. *J Appl Microbiol* 2001; 90: 27-33.

105. Zietz B, Wiese J, Brengelmann F, Dunkelberg H. Presence of *Legionellaceae* in warm water supplies and typing of strains by polymerase chain reaction. *Epidemiol Infect* 2001; 126(1): 147-152.
106. Borella P, Montagna MT, Romano-Spica V, Stampi S, Stancanelli G, Triassi M, Neglia R, Marchesi I, Fantuzzi G, Tato D, Napoli C, Quaranta G, Laurenti P, Leoni E, De Luca G, Ossi C, Moro M, Ribera D'Alcala G. *Legionella* infection risk from domestic hot water. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 457-464.
107. STOJEK, N. M., DUTKIEWICZ, J., Legionella in sprinkling water as a potential occupational risk factor for gardeners, *Annual of Agricultural Environmental Medicine*, 2002; 9, 261-264.
108. Kusnetsov J, Torvinen E, Perola O, Nousiainen T, Katila ML. Colonization of hospital water systems by *legionellae*, *mycobacteria* and other heterotrophic bacteria potentially hazardous to risk group patients. *APMIS* 2003; 111: 546-556.
109. Luck, P.C., Liebscher, B. Detection of *Legionella pneumophila* in water samples by quantitative culture and an antigen detection assay. *Int J Hyg Environ Health*.2003; 206, 201-204.
110. Johansson PJH, Andersson K, Wiebe T, Schalen C, Bernander S. Nosocomial transmission of *Legionella pneumophila* to a child from a hospital's cold-water supply. *Scand J Infect Dis* 2006; 38: 1023-1027.
111. Lasheras, A., Boulestreau, H., Rogues, A.M., Ohayon-Courtes, C., Labadie, J.C., Gachie, J.P. Influence of amoebae and physical and chemical characteristics of water on presence and proliferation of *Legionella* species in hospital water systems. *Am J Infect Control*. 2006; 34, 520-525
112. Rivera JM, Aguilar L, Granizo JJ, Vos-Arenilla A, Gimenez MJ, Aguiar JM, Prieto J. Isolation of *Legionella* species/serogroups from water cooling systems compared with potable water systems in Spanish healthcare facilities. *Journal of Hospital Infection*. 2007; 67: 360-366.
113. Lück PC, Wenchel HM, Helbig JH. Nosocomial pneumonia caused by three genetically different strains of *Legionella pneumophila* and detection of these strains in the hospital water supply. *J Clin Microbiol* 1998; 36(4): 1160-1163.
114. Goutziana, G., Mouchtouri, V.A., Karanika, M., Kavagias, A., Stathakis, N.E., Gourgoulisanis, K., Kremastinou, J., Hadjichristodoulou, C. Legionella Species Colonization of Water Distribution Systems, Pools and Air Conditioning Systems in Cruise Ships and Ferries. *BMC Public Health*. 2008; 8, 390.

115. Napoli, C., Fasano, F., Iatta, R., Barbuti, G., Cuna, T., Montagna, M.T. *Legionella* spp. and Legionellosis in Southeastern Italy: Disease Epidemiology and Environmental Surveillance in Community and Health Care Facilities. *BMC Public Health*. 2010; 10, 660.
116. Erdoğan H, Arslan H. Colonization of *Legionella* species in hotel water systems in Turkey. *J Travel Med* 2007; 14 (6): 369-373.
117. Çotuk A, Zeybek Z, Kimiran A, Türetgen İ, Kalaç Y. Farklı binaların su sistemlerinde *Legionella pneumophila* izolasyonu. *Kükem Derg* 1998; 21(3): 7-12.
118. Köksal F, Oğuzkurt N, Samastı M. İstanbul'da üç eğitim hastanesinin depo ve musluk sularında *Legionella* bakterilerinin araştırılması. *Klimik Derg* 2002; 15(1): 16 18.
119. Yıldırım Yürekoğlu, İ. Şişli Etfal Hastanesi Su Sisteminde *Legionella pneumophila* ve Diğer *Legionella* Türlerinin Araştırılması. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Sağlık Bakanlığı, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul 1996.
120. Babaoğlu G, Aydın D, Arseven O, Berkiten R. Atipik pnömoni olgularında *Legionella pneumophila*'nın direkt ve indirekt mikrobiyolojik yöntemlerle araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; 33: 35-38.
121. Akbas, E., Dalkılıç, I., Gözalan, A., Güvener, E. Otel su sistemlerinde *Legionella* spp.: Ege ve Akdeniz bölgelerinde bir çalışma. *Flora*. 1999; 4, 258-266.
122. Miroğlu N, Gürpınar H, Topal S, Uygun B, Soslu H, Dindar Ü. İstanbul ili otel su sistemlerinin *Legionella* cinsi bakteriler yönünden araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1999; 29(3-4): 138-140.
123. Erandaç, M., Elaldı, N. Hastane Musluk ve Duş Sularında *Legionella* Cinsi Bakterilerin Araştırılması. *CMJ*. 2001; 23 (2), 81-83.
124. Köse, E.O., Öngüt, G., Ögünç, D., Vural, T. Antalya ili otel su sistemlerinden alınan su örneklerinde *Legionella pneumophila* araştırılması. *Turkish J Infect*. 2004; 18, 143-147.
125. Uzel, A., Uçar, F., Hames-Kocabas, E. Prevalence of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in water distribution systems in İzmir province of Turkey. *APMIS*. 2005; 113, 664-669.
126. Birteksöz, A.S., Zeybek, Z., Çotuk, A. *Legionella pneumophila* suşlarına karşı çeşitli antibiyotiklerin in-vitro etkilerinin araştırılması, poster bildirisi, *Ankem Derg*. 2006; 20, 13.
127. Türetgen I, Sungur EI, Çotuk A. Enumeration of *Legionella pneumophila* in cooling tower water systems. *Environ Monit Assess* 2005; 100: 53-58.

128. Ozerol IH, Bayraktar M, Cizmeci Z, Durmaz R, Akbas E, Yıldırım Z, Yologlu S. Legionnaires' disease: a nosocomial outbreak in Turkey. *J Hosp Infect* 2006; 62: 50-57.
129. İğnak S., Gürler B., Bir Üniversite Hastanesi Su Sistemlerinde Legionella Türlerinin Araştırılması *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 42(3):110-114, 2012.
130. Akkaya Z., Özbal Y., Kayseri'deki Farklı Binaların Su Depolarında *Legionella* Araştırılması, Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences) 20(1) 9-17, 2011.
131. Erdoğan H., Arslan H. Yeni Açılan Bir Otelde Ortaya Çıkan *Legionella* Salgınının İrdelenmesi [poster] 7. Uluslararası Legionella Konferansı (13-17 Ekim 2009, Institute Pasteur, Paris).
132. Pınarbaşı, M. Eskişehir'de Klinik Örneklerde ve Sularda *Legionella* spp. Araştırılması. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir (2011).
133. Burak, D.M., Zeybek, Z. Investigation of *Legionella pneumophila* and Free Living Amoebas in the Domestic Hot Water Systems in İstanbul. *Turk J Biol.* 2011; 35, 679-685.
134. Feeley, J.C., R.J. Gibson, G.W. Gorman, N.C. Langford, J.K. Rasheed, D.C. Mackel, and W.B. Baine. Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J. Clin. Microbiol.* 1979; 10:437-441.
135. Feeley, J.C., G.W. Gorman, R.E. Weaver, D.C. Mackel, and H.W. Smith. Primary isolation media for Legionnaires' disease bacterium. *J. Clin. Microbiol.* 1978; 8:320-325.
136. Pasculle, A.W., J.C. Feeley, R.J. Gibson, L.G. Cordes, R.L. Myerowitz, C.M. Patton, G.W. Gorman, C.L. Carmack, J.W. Ezzell, and J.N. Dowling. Pittsburgh pneumonia agent: direct isolation from human lung tissue. *J. Infect. Dis.* 1980; 141:727-732.
137. Edelstein, P.H. Improved semi-selective medium for isolation of *Legionella pneumophila* from contaminated clinical and environmental specimens. *J. Clin. Microbiol.* 1981; 14:298-303.
138. British Standard, Water quality part 4: Microbiological methods, Detection and Enumeration of Legionella, 1998; BS6068, 4(12), ISO 11731.
139. Pınarbaşı M., Eskişehirde Klinik Örneklerde ve Sularda *Legionella* spp. Araştırılması. Yayınlanmamış tıpta uzmanlık tezi, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir (2011).
140. Koneman, E. W., Allen, S. D., Dowell, W. R., Sommers, H. M., Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Second Edition, JB Lippincott Company, Philadelphia (1983).

141. “Genel İdentifikasyon Testleri.” www.mikrobiyoloji.org (ET:02/06/2018).
142. York MK. Staining procedures: Gram stain. In: Garcia LS (editor in chief). Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. update, ASM Press, Washington D.C. 2007; p. 3.2.1.1 - 3.2.1.22
143. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı, <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/test-prosedurleri/UMS-B-TP-03-Gram-boyama.pdf> (ET:03/06/2018).
144. Blazquez RM, Espinosa FJ, Martnez- Toldos CM, Alemany L, Garca-Orenes MC, Segovia M. Sensitivity of urinary antigen test in relation to clinical severity in a large outbreak of *Legionella* pneumonia in Spain. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2005; 24: 488-491.
145. Lück PC, Von Baum H, Helbig JH, Marre R. The usefulness of microbiological diagnostic methods for the detection of *Legionella* infections in Legionella-State of the art 30 years of its recognition. Cianciotto NP, Abukwaik Y, Edelstein PH, Fields BS, Geary DF, Harrison TG, Joseph CA, Ratcliff RM, Stout JE, Swanson MS (eds). Washington DC: ASM Press. 2006; 15-21.
146. RSHMB Bakteriyoloji ve Mikoloji Laboratuvarı/ Ulusal *Legionella* Referans Laboratuvarı BCYE Besiyeri Hazırlanması ve *Legionella* su örnekleri inceleme Talimatı.
147. Costa J, Tiago I, da Costa MS, et al. Prespence and persistence of *Legionella spp.* in groundwater. *Appl Environ Microbioloji* 2005; 71, 663-671.
148. Rosmini F, Castellani-Pastoris M, Mazzotti MF, et al. Febrile illness in successive cohorts of tourists at a hotel on the Italian Adriaticcoast: evidence for a persistent focus of *Legionella* infection. *Am J Epidemiol* 1984; 119: 124-134.
149. Sevinç Mutaf, “Gaziantep İl Merkezindeki Çeşitli Soğutma Sistemleri ve Su Sistemlerinde *Legionella pneumophila* Varlığının Araştırılması.” Yüksek Lisans Tezi Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü, (2013).

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: BCYE agara pasaj yapılmış <i>L. pneumophila</i> kolonilerinin görünümü.....	41
Şekil 2: Gram negatif ince çomak şeklinde görülen <i>L. pneumophila</i> bakterileri (ışık mikroskobu, 100'lük objektif).....	42
Şekil 3: <i>L. pneumophila</i> 'ya ait katalaz pozitif reaksiyonu.....	42
Şekil 4: <i>L. pneumophila</i> serogruplandırmak için kullanılacak olan Latex Test Kitinin içeriği.....	43
Şekil 5: İzole edilen <i>Legionella</i> cinsi bakterilere uygulanan Latex Aglütinasyon Test sonuçları.....	43

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1: Camilerden izole edilen *L. pneumophila*'nın kaynağına göre dağılımı.....40

Tablo 2: *L. pneumophila* serogruplarının örneklere göre dağılımı.....41



Ek 1. Etik kurul karar formu

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU							
BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	Kahramanmaraş İl Merkezindeki Çeşitli Soğutma Sistemleri ve Su Kaynaklarında Legionella Cinsi Bakterilerin Tanımlanması					
	Sorumlu Araştırmacı	Prof.Dr. Ekrem KİREÇÇİ					
	Başvuru Tarihi	16.12.2016					
	Protokol No	286					
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	- Anket çalışmaları -Diğer (Çevresel su örnekleri ile yapılacak araştırma)						
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>			
KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2016/21	Karar No: 07	Tarih:28.12.2016				
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası; araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel yönden sakınca bulunmadığı toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile KABUL EDİLMİŞTİR.						
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Araştırma ile ilişkisi		Katılım	İmza	
Başkan Prof. Dr. Metin KILINÇ	Tıbbi Biyokimya	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Sefa RESİM Üye	Üroloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hafize ÖKSÜZ Üye	Anestezi ve Reanimasyon	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. B. Nurtan AKKEÇECİ Üye	Fizyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Adem DOĞANER Üye	Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Murat BAYKARA Üye	Radyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Burak DOĞAN Üye	Çocuk Cerrahisi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
ŞERH (VARSA)							

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Sibel DAĞLI
Uyruğu : TC
Doğum tarihi ve yeri : 1994 / Kırıkhan
Medeni hali : Bekâr
Telefon : 0505 032 96 31
e-posta : sibel.dagli@hotmail.com

Eğitim Derecesi

Eğitim Birimi

Mezuniyet Tarihi

Yüksek Lisans	KSÜ/Sağlık Bilimleri Tıbbi Mikrobiyoloji	2018
Lisans	İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi-Biyoloji	2015
Lise	Emine Konukoğlu	2011

Yabancı Diller

İngilizce

Hobiler

Doğa bilimleri, yüzme, tenis