

KASIM, 2013

YÜKSEK LİSANS TEZİ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ

SEVİNÇ MUTAF

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GAZİANTEP İL MERKEZİNDEKİ ÇEŞİTLİ  
SOĞUTMA SİSTEMLERİ VE SU SİSTEMLERİNDE  
*Legionella pneumophila* VARLIĞININ  
ARAŞTIRILMASI

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ  
YÜKSEK LİSANS

SEVİNÇ MUTAF  
KASIM 2013

**Gaziantep İl Merkezindeki Çeşitli Soğutma  
Sistemleri ve Su Sistemlerinde *Legionella  
pneumophila* Varlığının Araştırılması**

**Gaziantep Üniversitesi  
Biyoloji Bölümü  
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışmanlar  
Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ  
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN**

**Sevinç MUTAF  
Kasım 2013**

© 2013 [Sevinç MUTAF]


**T.C.**  
**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**Tezin Adı:** Gaziantep İl Merkezindeki Çeşitli Soğutma Sistemleri ve Su Sistemlerinde *Legionella pneumophila* Varlığının Araştırılması

**Öğrencinin, Adı Soyadı:** Sevinç MUTAF

**Tez Savunma Tarihi:** 25/11/2013

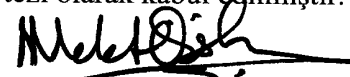
**Fen Bilimleri Enstitüsü onayı**


  
Doç. Dr. Metin BEDİR  
FBE Müdürü

Bu tezin yüksek lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

  
Prof. Dr. Canan CAN  
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımca (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

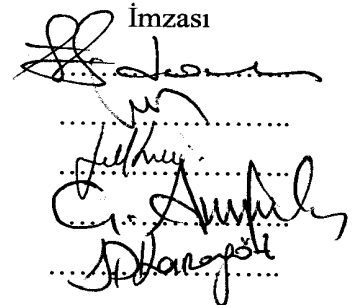
  
Prof. Dr. Mehmet ÖZAŞLAN  
İkinci Tez Danışmanı

  
Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI  
Doç. Dr. Yasemin ZER  
Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ  
Doç. Dr. Abuzer ÇELEKLİ  
Yrd. Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ

İmzası  


**İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.**

**Sevinç MUTAF**

**ABSTRACT**

**INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF *Legionella pneumophila* IN  
VARIOUS COOLING SYSTEMS AND WATER SYSTEMS IN GAZIANTEP  
CITY CENTER**

MUTAF, Sevinç  
M.Sc. in Biology

Supervisors: Assoc. Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ - Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN  
Kasım 2013, 34 pages

In this study, the presence of *Legionella pneumophila* located in water tank, tap water, cooling systems, faucets and shower heads in schools, hospitals and hotels in Gaziantep City center was investigated and their serogroups were determined. Between November 2012 and June 2013, 82 *L. pneumophila* in water samples and 231 (73.80%) *L. pneumophila* in swab samples from cooling systems, taps and shower heads were included in the study. Water and swab samples were inoculated in GVPC-Medium and incubated at 37 °C for 15 days. After incubation, suspected colonies were performed with gram staining and inoculated in TSA and GVPC-Medium separately, and then incubated at 37 °C for 48 hours for identification. *L. pneumophila* colonies were serotyped with latex agglutination test (Oxoid). 93 (29.71%) of 313 samples were *L. pneumophila*. 74 of detected *L. pneumophila* is serogroups 2-14, 19 (20.43%) of them were the serogroup 1. *L. pneumophila* in many central water system in Gaziantep was has been shown to be colonized. These areas may be sources of *L. pneumophila* infection for humans. So we suggested that screening cultures should be taken from water systems in Gaziantep City center and, it is needed decontamination applications should be performed.

**Key Words:** *Legionella pneumophila*, Gaziantep, water system

**ÖZET**  
**GAZİANTEP İL MERKEZİNDEKİ ÇEŞİTLİ SOĞUTMA**  
**SİSTEMLERİ VE SU SİSTEMLERİNDE *Legionella pneumophila***  
**VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

MUTAF, Sevinç  
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü  
Tez Yöneticileri: Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ – Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN  
Kasım 2013, 34 sayfa

Bu çalışmada Gaziantep il merkezinde bulunan okul, hastane ve otellere ait su depolarının, musluk sularının, soğutma sistemlerinin, musluk ve duş başlıklarının *Legionella pneumophila* varlığının saptanması ve serogruplarının belirlenmesi araştırılmıştır. Kasım 2012 – Haziran 2013 tarihleri arasında 82 (26.19%) su örneği ve 231(73.80%) sürüntü örneği olmak üzere toplam 313 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Alınan su ve sürüntü örnekleri GVPC-Medium besiyerine ekilerek 37 °C’de 15 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası şüpheli koloniler gram boyama yapılarak TSA ve GVPC-Medium besi yerlerine ayrı ayrı ekilerek 37 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılarak identifikasyon yapılmıştır. *L. pneumophila* kolonileri Lateks aglütinasyon testi (OXOİD) ile serotiplendirilmiştir. Toplam 313 örnekten 93 (29.71%) tanesi *L. pneumophila* olarak saptanmıştır. Saptanan *L. pneumophila*’ların 74 (79.56%)’ünün serogrup 2-14 olduğu, 19 (20.43%) tanesinin ise serogrup 1 olduğu belirlenmiştir. *L. pneumophila*’nın Gaziantep ilinde birçok merkezi su sisteminde kolonize olduğu gösterilmiştir. Bu alanların insanlar açısından enfeksiyon kaynakları olabileceği düşünülerek tarama amacıyla su sistemlerinden kültürler alınmalı, gerekirse dekontaminasyon uygulamaları yapılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** *Legionella pneumophila*, Gaziantep, su sistemi

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, aynı zamanda kişilik olarak da bana çok şey katan Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocalarım, sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN ve Doç. Dr. İbrahim Halil KILINÇ'a

Tez çalışmamdaki teşhislerinde desteklerini benden esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Yasemin ZER'e

Bu çalışmada maddi destek sağlayan Gaziantep Üniversitesi BAP Yönetim Birimine (FEF.12.06)

Tez çalışmamda örneklerimin toplaması konusunda yardım eden Yük. Bio. İzettin GÜLER'e ve yüksek lisans eğitimim boyunca bana manevi olarak destek olan arkadaşlarım Yük. Bio. Nazlı BOZMAN ve Yük. Bio. Demet YILMAZKAYA'ya

Yaşamım boyunca beni maddi ve manevi olarak hep destekleyen, güvenen ve her zaman yanımda olan çok sevdiğim aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

ABSTRACT.....	v
ÖZET.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
RESİM LİSTESİ.....	xi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Legionella</i> Bakterisi Tarihçe ve Sınıflandırma.....	1
1.2. <i>Legionella</i> Cinsi Bakterilerin Ekolojisi.....	2
1.3. Laboratuvar Tanısı.....	3
1.3.1. Direk Boyama.....	3
1.3.2. Bakteriyolojik Kültür.....	3
1.3.3. Serolojik Yöntemler.....	4
1.3.4. DNA Probe ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	5
1.4. Yaptığı Hastalıklar.....	6
1.4.1. Lejyoner Hastalığı.....	6
1.4.2. Pontiac Ateş.....	7
1.5. Tedavi.....	7
1.6. Korunma ve Dezenfeksiyon Yöntemleri.....	7
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	10
3. MATERYAL METOT.....	15
3.1. Örneklerin Toplanması.....	15
3.1.1. Su Örneklerinin Toplanması.....	16
3.1.2. Sürüntü Örneklerinin Toplanması.....	16
3.2. Bakteriyolojik Analiz.....	17

3.2.1. <i>Legionella</i> İzolasyonu.....	17
3.2.1.1. <i>Legionella</i> Cinsi Bakterilerin Tanısı.....	17
3.2.1.2. Gram Boyama.....	18
3.3. Serolojik Test.....	20
3.4. <i>Legionella</i> İzolasyonu için Kullanılan Besiyerleri.....	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. Bakteriyolojik Bulgular.....	22
4.2. Serolojik Bulgular.....	23
5. TARTIŞMA SONUÇ.....	25
6. KAYNAKÇA.....	28

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

Tablo 3.1: Alınan su ve sürüntü örneklerinin kaynağına göre dağılım.....	16
Tablo 4.1: Okullarda izole edilen <i>L. pneumophila</i> 'nın kaynağına göre dağılımı.....	22
Tablo 4.2: Hastanelerde izole edilen <i>L. pneumophila</i> 'nın kaynağına göre dağılımı..	23
Tablo 4.3: Otellerde izole edilen <i>L. pneumophila</i> 'nın kaynağına göre dağılımı.....	23
Tablo 4.4: <i>L. pneumophila</i> serogruplarının örnek kaynağına göre dağılımları.....	24

## RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Resim 3.1.: Örnek alınan okulların haritadaki yerleşimi.....	15
Resim 3.2.: GVPC Medium besiyerinde üreyen <i>L. pneumophila</i> bakteri kolonilerinin görünüm.....	18
Resim 3.3.: İlk izolasyonda Gram negatif çomaklar şeklinde görülen <i>L. pneumophila</i> .....	19
Resim 3.4.: <i>L. pneumophila</i> bakterisinin pasajlardan sonra oluşturduğu filamansı görünüm.....	19
Resim 3.4.: <i>L. pneumophila</i> SG 2-14 aglütinasyon görünümü.....	20
Resim 4.1.: Okul, hastane ve otellerde saptanan serogrupların haritada görünümü...24	

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

ACES: n-(2-asitamido)-2-aminoetanosulfonik asit

BAL: Bronsiyal aspirasyon sıvısı

BCYE: Buffered charcoal yeast extract agar

DFA: Direkt immunfloresan

DNA: Deoksiribonükleik asit

EIA: Enzim immünassay

GVPC: Glycine-Vancomycin-Polymyxin-Cycloheximide

IFA: İmmünofloresan

Ig: İmmünoglobulin

Mip: Macrophage infectivity potentiator

µm: mikrometre

nm: nanometre

°C: santigrat derece

O<sub>3</sub>: Ozon

PCR: DNA Probe ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ppm: Parts per million

RIA: Radyoimmünassay

RNA: Ribonükleik asit

TSA: Tryptic soy agar

UV: ultraviyole

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

#### 1.1. *Legionella* Bakterisi Tarihçe ve Sınıflandırma

*Legionella pneumophila* ilk kez 1976 yılının Temmuz ayında Philadelphia'da Amerikan ordu toplantısına katılan delegelerde tanımlanmıştır. Bu toplantıya katılan Amerikan lejyonerlerinden 189'u pnömoni salgınına yakalanmış ve bunlardan 29 tanesi bu salgından dolayı hayatını kaybetmiştir. Ortaya çıkan salgının nedenini araştırmak için yapılan çalışmalar sonucunda 1977 yılının Ocak ayında Atlanta Hastalık kontrol merkezinde *L. pneumophila* bakterisi izole edilmiştir (Alary ve Joly, 1992).

Atipik pnömoni nedeni ile ölenlerden alınan akciğer örneklerinden izole edilen bakteri mevcut hiçbir taksonomik gruba uymadığı için yeni bir familya olan, "Legionellaceae familyası", yeni bir cins; "*Legionella* cinsi" ve yeni bir tür, "*pneumophila* türü" olarak sınıflandırılmıştır. *Legionella pneumophila* bakterisi ismi; *legion* (Amerikan lejyonarı), *pneumo* (akciğer), *phila* (Yunanca: seven) kelimelerinden türetilmiştir (Brenner vd., 1979).

Legionellaceae familyası 50 tür ve 70 serogruptan oluşmaktadır (Fields vd., 2002). Legionellaceae familyasında bulunan bakteriler; soluk boyanan, Gram negatif, aerop, sporsuz, genellikle kapsülsüz, hareketli, pleomorfik görünümde ve çomak şeklindedirler. Bir veya iki kutupsal kirpikleri vardır. Gram negatif olarak tanımlanmalarına rağmen gram boyama yöntemiyle zor boyanır. *Legionella* türleri, 0.3-0.9 µm eninde, 2-6 µm boyundadır (Chandler vd., 1979; Rodgers vd., 1979).

*Legionella* cinsi bakterilerin hücre duvar yapısı elektron mikroskobu ile incelendiğinde tipik Gram negatif bakteri hücre duvarı yapısında olduğu gözlenir. *L. pneumophila* hücre duvarında, ince bir peptidoglikan ve lipopolisakkarit tabakasının önemli yapısı olan diaminopimelik asit ve 2-keto-3 deoksioktanat vardır.

Sitoplazmasında ise Sudan Black B ile boyanan polibetahidroksi-butirat granülleri bulunmaktadır (Rodgers vd., 1980; Stone ve Akbulut, 1988).

*Legionella* cinsi bakterilerinin yağ asit yapıları genel Gram negatif bakterilerin yağ asit yapısından farklıdır. Bu bakteri türünün hücrelerinde bol miktarda dallanmış yağ asiti zincirleri ve daha az sayıda ester bağlarıyla bağlı hidroksiasitler vardır. Karmaşık yapıda bulunan bu yağ asitleri, bakterileri sıcak ortamlarda ısıdan korumaya yarar (Harrison, 2006).

*Legionella* 'lar üreaz negatif, katalaz pozitif ve oksidaz negatif olarak reaksiyon verirler (Inoue vd., 2002). Nitratı nitrite indirgerler. Ayrıca karbonhidratları oksidasyon ya da fermentasyon yoluyla parçalamazlar, nonfermentatiflerdir. Temel enerji kaynağı olarak aminoasitleri kullanırlar (Müller, 1981; Steinert vd., 2002).

## **1.2. *Legionella* Cinsi Bakterilerin Ekolojisi**

*Legionella* cinsi bakterilerin ekolojisinin bilinmesi, potansiyel pnömoni salgınlarnın önlenmesi açısından önemlidir.

*L. pneumophila*'nın genel ortamı çeşitli su habitatları ve topraktır (Hsu vd., 1984; Stout vd., 1992). Zorunlu hücre içi paraziti olan *Legionella*'nın su içinde ve sistemde oluşan biyofilm içinde bulunabilen protozoonlar ve alglerin vakuollerinde yaşamlarını sürdürerek çoğaldıkları ve hücrelerin ölmesi ile suya geçtikleri yapılan çalışmalar sonucunda anlaşılmıştır (Breiman vd., 1990; Wintermayer vd., 1991).

*Legionella* cinsi bakteriler, biyofilm tabakası içinde yaşamını sürdürürken aynı ortamdaki diğer canlılarla etkileşime girmektedir. Be etkileşim sonucu bazı diğer canlılar *Legioenella* cinsi bakterilerin üremesine olumlu etki ederken, bazıısı da üremesini engellemektedir. *Fischerella*, yeşil algler ve Cyanobacteriler *Legionella* cinsi bakterilerin üremesini olumlu yönde etki etmektedir (Baron ve Finegold, 1990; Akbaş, 1996). Bunun aksine *Pseudomonas* benzeri suşlar, *Streptococcus* ve *Bacillus* türlerinin ise *Legionella* cinsi bakterilerin üremesini engelledikleri belirtilmiştir (Toze vd., 1990).

*Legionella* cinsi bakterilerin üremesine etki eden önemli faktörlerden biri sudaki biyosit miktarıdır (Akbaş, 1996). Ayrıca bakterinin üremesine etki eden faktörlerden birisi de su sıcaklığıdır. 20 °C'den az 60 °C'den fazla sıcaklıklarda bu bakteri türünün baskılandığı yapılan çalışmalar sonucunda belirtilmiştir (Health ve Safety Series Booklet, 1991).

Ayrıca pH değişiklikleri, ultraviyole ışınları *L. pneumopila*'nın üremesine etki eden diğer faktörlerdendir (Katz ve Hammel, 1987).

*Legionella* cinsi bakteriler insanlara bulaşması; soğutma kulesi, duş başlığı, buz makinaları, nebulizörler, nemlendiriciler, jakuzi gibi bakteri ile kontamine olmuş çevresel kaynaklardan yayılan aerosollerin insanlar tarafından solunarak solunum sistemine alınmasıyla gerçekleşir (Çotuk, 1998).

### **1.3. Laboratuvar Tanısı**

#### **1.3.1. Direk Boyama**

Doğrudan Gram, Giemsa ve gümüşleme ile boyama klinik örneklerin tanısında kullanılan en hızlı yöntemdir (Greer vd., 1980). Klinik örneklerdeki mikroorganizma standart gram boyama yöntemi ile zor boyandığı için, zıt boya olan safraninin bekletilme süresi daha uzun tutulmaktadır. Giemenez boyası, standart Gram boyama yöntemine göre bakteriyi daha etkili olarak boyamaktadır. Parafin tesbitli dokulardaki bakterinin gözlemlenebilmesi için ise, Warthin-Starry ve Dieterle gibi gümüş boyama yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir (Tuğrul, 2002).

#### **1.3.2. Bakteriyolojik Kültür**

Kültür, 100% özgüllüğü ile en güvenilir yöntemdir olduğu için kesin tanı için kültürde bakteri üretimi yapılmalıdır. Kültür de üretmek amacıyla başta balgam olmak üzere BAL, biyopsi materyali, boğaz sürüntüsü ve kan gibi çeşitli klinik örneklerin yanı sıra, epidemiyolojik amaçlar için kaynak araştırmasında çevresel örneklerde kullanılır. Örnekler 30 dk içerisinde hemen laboratuvara getirilerek ekim yapılacaksa, taşıma besiyeri, tampon, fizyolojik tuzlu su kullanımı gerekmez. Eğer



laboratuvara gönderilme işlemi 48 saati bulacaksa 4 °C’de saklanmalıdır (Stout, 2003).

*Legionella*, standart besiyerinde üremediği için izolasyonda özel besiyerleri gerekir. Bu nedenle çeşitli antibiyotiklerin eklenmesiyle seçici özellik kazandırabilecek “Buffered Charcoal Yeast Extract- $\alpha$ -ketoglutarate” (BCYE- $\alpha$ ) besiyeri kullanılır (Edelstein, 1982). *Legionella* cinsi bakteriler, BCYE agara ekilerek 35 °C – 37 °C’de nemli ve 5% CO<sub>2</sub>’li atmosferde 7-10 gün süre ile üretilmektedir. Besiyerinin içinde bulunan maya özütü, bakteri için besin kaynağıdır. L-sistein, demir bileşikleri ve  $\alpha$ -ketoglutarat *Legionella* üremesini uyarır. Aktif kömür ise, özellikle besiyerinin ışık ile teması sonucu oluşabilecek süperoksit radikalleri ve peroksit bileşiklerinin nötralize edilmesinde görev alır. Besiyerine katılan ACES [N-(2-asetamido)-2-aminoethanesulfonic acid] tamponu, *Legionella* üremesi için gerekli optimum pH’yı sağlamaktadır (Feeley vd., 1991).

*Legionella* enfeksiyonlu kişilerdeki, enfeksiyon kaynağını belirlemek için hastanın yaşadığı yer ve çevresindeki sulardan örnek alınmalıdır. Depodan, sıcak su tanklarından sediment, fose ve duşlardan sürüntü örnekleri alınır (Edelstein, 1982).

İnkübasyon en az 5 gün, nemli ortamda yapılmalıdır. CO<sub>2</sub>’li ortam üremeyi artırır. *Legionella* kolonileri gri-beyaz renkte, yuvarlak, genellikle mukoid yapıdadır. Şüpheli kolonilerden koyun kanlı, çikolata agar, triptik soy agar (TSA) gibi rutin amaçlı besiyerlerine, antibiyotik içermeyen BCYE agar ile birlikte paralel pasaj yapılır. *Legionella* türleri kanlı, çikolata ve TSA besiyerlerinde üremezler. *Legionella* türlerinin biyokimyasal testlerle tiplendirilmesi zordur. *L. pneumophila* türünü ayırmak için hippurat hidrolizi testi uygulanabilir. Tür tiplendirilmesinde en pratik yol serolojik yöntemlerdir. Kanlı agarda üremeyen, BCYE’de üreyen izolatlardan, özgül serumlar kullanılarak yapılan aglutinasyon testi ile tanıya gidilir (Winn vd., 2006).

### 1.3.3. Serolojik Yöntemler

Epidemiyolojik araştırmalarda geriye dönük tanıya yol gösterdiği için genellikle serolojik yöntemler kullanılır. Bu nedenle hasta serumunda antikor düzeylerini araştırmak için mikroaglutinasyon ve enzim immünassay (EIA) gibi teknikler

geliştirilmiş fakat en sık kullanılan teknik IFA'dır. Serolojik testlerin duyarlılığı 80%, özgüllüğü 96-99% arasındadır (Stout, 2003).

**İmmünofloresan (IFA);** *Legionella*'ya özgü IgM, IgG, IgA sınıfı antikorların tespitinde kullanılan bir yöntemdir. Konvelesan örneğin, akut fazda alınmış örnekten en az 6 hafta sonra alınması gereklidir. Titrede dört kat artış saptanması sonucu tanı konulur. *Legionella* enfeksiyonlarında tanının geç konması nedeni ile daha çok epidemiyolojik çalışmalarda ve potansiyel salgınları önlemek amacı ile IFA yöntemi kullanılmaktadır (Edelstein vd., 1985).

**Direkt immünofloresan (DFA);** solunum sistemi salgılarından antijen aramak için kullanılan yöntemdir. Bu teknikte türe ve serogruba özgül dış membran proteinlerine karşı elde edilmiş monoklonal floresan antikor kullanılır (Barbaree vd., 1986). Hızlı sonuç alınmasına karşın, kültür yöntemine göre duyarlılığı daha düşüktür. Duyarlılığı, balgam örneklerinin incelenmesinde yaklaşık 50% iken, BAL, akciğer dokusu biopsi örneği gibi daha özgül örneklerde ise 70%'e ulaşmaktadır (Plouffle vd., 1995).

**Enzim immünassay (EIA), radyoimmünassay (RIA) ve Lateks aglutinasyon teknikleri;** klinik semptomların başlangıcından yaklaşık üç gün sonra hastanın idrarında solubl halde bulunabilen *L. pneumophila* serogrup 1'e ait antijenlerin hızlı belirlenmesinde kullanılan yöntemdir. Lejyoner hastalığında antijenlerin idrarla atılımı, bir yıl süre ile devam etmektedir. Bu nedenle antijenüri, teorik olarak akut enfeksiyonun kanıtı değildir. Yöntemi sınırlı kılan diğer faktör de bu yöntemle sadece *L. pneumophila* serogrup 1 antijenlerinin tespit edilebilmesidir. Ancak enfeksiyonların 80- 85%'inde *L. pneumophila* serogrup 1'in sorumlu olduğu göz önüne alındığında üriner antijen araştırmasında hızlı ve özgül bir tanı yöntemi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Hackman vd., 1996).

#### **1.3.4. DNA Probe ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)**

*Legionella*'ların cinse özgü ribozomal RNA'larının belirlenmesinde, DNA hibridizasyon testleri ve genellikle kontamine sularda *Legionella* aranmasında PCR uygulanmaktadır. Genellikle hedef DNA bölgesi olarak *Legionella* türlerine özgül *5SrRNA* geni veya *Mip* geni seçilmektedir. PCR yöntemi çevresel örneklere olduğu

gibi balgam, BAL, serum, idrar gibi klinik örneklere de uygulanabilen bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda yöntemin duyarlılığı 85%, özgüllüğü ise 99% bulunmuştur (Wellinghausen vd., 2001).

#### **1.4. Yaptığı Hastalıklar**

İnsandaki *Legionella* enfeksiyonlarının çoğu *L. pneumophila* kaynaklı olarak meydana gelmektedir (Murder ve Yuu, 2002).

*L. pneumophila* tanımlanmış 15 serogrubuyla en yaygın *Legionella* türüdür. *L. pneumophila* serogrup 1'in kültürü yapılmış birçok lejyoner hastalığı vakalarında ilk sırada yer aldığı, *L. pneumophila* serogrup 2-14'ün ise; lejyoner hastalığı vakalarının 7%'sinden sorumlu olduğu belirlenmiştir. *L. pneumophila* serogrup 2-14'ler arasında ise insanda enfeksiyonlara neden olan serogruplar ise; 3, 4, 6 ve 13 olarak bulunmuştur (Faris vd., 2005).

##### **1.4.1. Lejyoner Hastalığı**

*Legionella* enfeksiyonları arasında en sık tespit edilen ve ciddi seyreden bir hastalıktır. Kuluçka süresi 2-10 gündür. Hastalık semptomları çok hafif öksürük ve ateş şeklinde hafif seyredebildiği gibi, ani başlayan ve birden fazla sistemin tutulumuyla çok ağır seyreden pnömoni şeklinde de olabilir (Sopena vd., 1998).

Lejyoner hastalığının, immün sistemin baskılandığı durumlarda, kronik akciğer hastalığı olanlarda, cerrahi uygulama görenlerde, transplantasyonlularda, kanserli hastalarda, diyabetlilerde, alkol ve sigara bağımlısı orta yaşlı ve yaşlılarda görülme oranı daha fazladır (Lim vd., 2001).

Ayrıca lejyoner hastalığının görülme oranı; su rezervuarlarındaki kontaminasyon derecesine, kontamine su ile temas eden kişinin duyarlılığına ve etkenin organizmaya giriş duyarlılığına bağlı olarak da değişiklik göstermektedir. Laboratuvar tanı yöntemlerinin yetersiz olması nedeniyle *Legionella* enfeksiyonlarının bilinenden daha fazla olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda toplumsal kaynaklı pnömonilerde *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae*'dan sonra en sık görülen üçüncü pnömoni etkeninin *Legionella* türleri olduğu görülmektedir (Win vd., 2006).

*Legionella* enfeksiyonu tedavisinde kullanılan ilaç eritromisindir. Enfeksiyonun ağır olduğu durumlarda rifampisin ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Penisilin sınıfı antibiyotikler bu bakteriyi etkilemedikleri için tedavide kullanılmazlar (Akalin, 1993).

#### 1.4.2. Pontiac Ateş

İnkübasyon süresi; 24–48 saattir. *Legionella* enfeksiyonları içerisinde görülme sıklığı 90–95% oranındadır. En sık gözlenen semptomlar; halsizlik, adale ağrıları, ateş, üşüme, titreme ve baş ağrısı şeklindedir. Grip benzeri bulgular gösteren, pnömoni ile seyretmeyen bir türdür. İlaç tedavisi gerektirmeden bir haftada kendiliğinden iyileşmektedir (Kayabek, 2002).

#### 1.5. Tedavi

*Legionella* enfeksiyonlarının tedavisinde klasik olarak kullanılan ilaç eritromisindir. Ağır olgularda bu antibiyotiğin rifampisin ile birlikte kullanılması gerekmektedir. Son yıllarda azitromisin, klaritromisin ve roksitromisin gibi daha yeni makrolidler ve siprofiloksin, perfloksasin gibi kinolonlar da bu enfeksiyon için kullanılan ilaçlar arasındadır. Penisilin sınıfı antibiyotikler *Legionella* bakterilerine etki etmezler. Makrolidler, kinolonlar, rifampin, trimetoprim sulfametoksazol ve tetrasiklinlerin, *in vivo* koşullarda, *Legionella* türlerine etkili olduğu saptanmıştır (Akalin, 1993).

#### 1.6. Korunma ve Dezenfeksiyon Yöntemleri

**Termal dezenfeksiyon:** Bu yöntem, bakterinin doğal üreme özelliğinden kaynaklanan faktörler göz önünde bulundurularak uygulanır. *Legionella* ailesinin 90%'ı 60 °C ısıda yaklaşık yarım saat içerisinde ölmektedir. Bir eradikasyon yöntemi olan “Süperheat-and-flush” metodu oldukça yaygın uygulanmaktadır. Sıcak su tank sıcaklığı 70 °C'ye yükseltilerek tüm su boruları musluklar ve duş başlıkları en az 30 dk sıcak su ile flaşlanması sağlanır (Kayabek, 2002).

**UV ile dezenfeksiyon:** Su dezenfeksiyonunda UV kullanımı teorik olarak alternatif bir metottur. 254 nm dalga boyundaki UV, bakterilerin DNA replikasyonunu engellemektedir. Lokalize bir bölgenin dezenfeksiyonu için UV ile ışınlama iyi bir yöntemdir. UV üniteleri; duş başlığı, musluk gibi lokalize bir bölgenin yanına kurulur. Sterilizasyon düşük basınçlı civa lambalarından geliştirilen UV'ye temas etme ile gerçekleştirilir. Etkisinin kısa olması ve biyofilm içerisine etkili olmaması nedeniyle bu yöntem *Legionella* dezenfeksiyonu için etkin bir yöntem değildir. Hiperklorizasyon, süper ısıtma gibi yöntemlerle beraber uygulandığında daha etkili olmaktadır (Kayabek, 2002).

**Ozonlama (O<sub>3</sub>):** Ozon, klordan daha fazla biyosidal aktiviteye sahip güçlü bir oksitleyicidir. Ticari ozonatörler, var olan oksijeni triatomik fazdaki O<sub>3</sub>'e dönüştürürler. O<sub>3</sub>, bakteri DNA'sına zarar vererek etki göstermektedir. Güçlü bir antioksidan olmasına rağmen, etkisinin kısa olması ve biyofilm içerisinde bakteriye etkili olmaması bu yöntem için bir dezavantajdır (Erdem, 1998).

**Gümüş ve bakır iyonizasyon yöntemi:** Ev su sistemlerinde *Legionella* bakterilerinden korunmanın en pratik yolu gümüş ve bakır iyonizasyon yöntemidir. Bakır ve gümüş iyonlaşması yöntemiyle insanlara zarar vermeden *Legionella* bakterilerinin etkileri ortadan kaldırılır (Kantaroglu, 2006). Pozitif yüklü bakır (Cu<sup>+2</sup>) ve gümüş (Ag<sup>+</sup>) iyonları, organizmanın hücre duvarı üzerindeki negatif yüklü bölgeler ile bağlanarak hücre duvar permeabilitesini bozmaktadır. Ayrıca protein denatürasyonuna da yol açarak hücrenin liziz olmasına yol açar (Kayabek, 2002).

**Klorlama:** *E. coli* ve diğer koliform bakteriler oranla *Legionella* cinsi bakteriler klorla daha dirençlidir. *L.pneumophila*'nın eradikasyonu için klor konsantrasyonunun 2-6 mg/L seviyesinde olmalıdır. Fakat şebeke su sistemlerinde klor oranı *L. pneumophila* eradikasyonu için yereli değildir. Amip kisti içindeki *Legionella* bakterisinin eradikasyonu için gereken klor miktarının ise >50 mg/L olduğu gösterilmiştir. Güçlü bir antioksidan olması avantajdır, ancak uygulamasının uygun olduğu dozlarda 0.4-0.8 ppm özellikle biyofilmi içerisindeki *Legionella*'ya etkisi zayıftır (Kim vd., 2002).

**Monokloramin:** Amonyak ve serbest klorun suda karıştırılması ile elde edilmekte ve içme suyu dezenfeksiyonu için kullanılmaktadır. Monokloramin biyofilm içine serbest klordan daha iyi penetre olur. 2 mg/L monokloramin düzeyi *Legionella*

bakterisinin üremesini engellemekte, 4 mg/L monokloramin düzeyi ise 30 dk içinde 99.99%'dan fazla *Legionella* bakterisini öldürmektedir (Kim vd., 2002).

**Kombine yöntemler:** Dezenfeksiyonun etkinliğini ciddi derecelerde artıran, alternatif yöntemlerdir (Kayabek, 2002).

- Klor ve kloramin
- Klordioksit ve kloramin
- Ozon ve klor
- Ozon ve kloramin
- UV ve klor
- UV ve kloramin

Çalışmamızda Gaziantep İli merkezindeki toplu yaşam alanları olan okul, hastane ve otellere ait su depolarından, soğutma sistemlerinden ve musluklardan örnekler alınarak *L. pneumophila* varlığının saptanarak serotiplendirilmesi amaçlanmıştır. Böylece ilimize ait su şebeke sisteminin *L. pneumophila* açısından potansiyel risklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

## BÖLÜM 2

### KAYNAK ÖZETLERİ

Amerika Birleşik Devleti'nin Philadelphia eyaletinde gerçekleştirilen Amerikan Lejyonerleri arasında ki bir toplantıda 4400 kişiden 189'unda görülen ve kaynağı belli olmayan bir pnömoni salgın gelişmiştir. Hastalanan kişilerden 29'u hayatını kaybetmiştir. Bu pnömoni salgını ile etkenin nedenini bulmak için birçok çalışma başlatılmıştır (Fraser vd., 1977).

*L. pneumophila* ilk kez 1947 yılında pnömoni tanısı konmuş hastanın kanından izole edilmiş ve çeşitli bakteriyolojik besiyerlerinde üretilmesi sağlanamamış fakat üremediği için "Riketsiya'ya Benzeyen Etken" olarak tanımlanmıştır. 1977 yılında ise yapılan çalışmalarda bu bakterinin aslında *Legionella* cinsine ait olduğu kabul edilmiştir (McDade vd., 1977).

Geriye yönelik yapılan çalışmalarda aynı otelde 1974 yılında yapılan Odfellows toplantısında ölen kişilerin de kaynağının *L. pneumophila* olduğu belirlenmiştir (Terranova vd., 1978).

Kurtz vd. (1982), yaptıkları pilot çalışmada başlangıçta 14 soğutma sisteminden 6 tanesinde *L. pneumophila* tespit etmişler, 2 haftalık rutin çalışma sonucunda ise soğutma sistemlerinin 10'unda *L. pneumophila* olduğunu belirtmişlerdir.

Edelstein (1982), Los Angeles'daki bir hastaneden aldığı 100 içme suyu örneğini *L. pneumophila* izolasyonu için 3 ayrı besiyerine kültüre almıştır. Çalışmalar sonucunda 24 örnekte *L. pneumophila* pozitif bulmuş ve pozitif olan kültürlerin serogrupları 1 ve 4 olarak belirlemiştir.

Plouffe vd. (1983), yaptıkları bir çalışmada 6 hastane binasından aldıkları örnekleri inceleyerek 4 hastane binasından *L. pneumophila* serogrup 1 izole etmiş, izole edilen binalardan alınan örneklerin sıcaklığı 43-45 °C iken *L. pneumophila* izole edilmeyen binalardan alınan örneklerin sıcaklığı ise 58-60 °C olarak belirlemiştir.

Barbaree vd. (1987), *Legionella* türlerinin kaynaklarını belirlemek için 2 farklı hastaneden örnekler almışlardır. A hastanesinden alınan 106 örneğin 43 tanesinde *L. pneumophila* izole edilmiş ve izole edilen pozitif örnekler 3 farklı serotip olarak belirlenmiştir. B hastanesinden alınan 37 örneğin 13 tanesi *L. pneumophila* serotip 1 olarak belirlenmiştir.

Vickers vd. (1987), Pensilvanya’da bulunan 15 hastanenin sıcak ve soğuk su dağıtım sistemlerinde *L. pneumophila* varlığını araştırmışlar ve 9 hastanenin su sisteminde *L. pneumophila* tespit etmişlerdir.

Lee vd. (1988), tarafından Pensilvanya’da yapılan başka bir çalışmada 55 evin sıcak su tankı, musluk ve duş başlıklarından örnekler alarak *L. pneumophila* varlığı araştırılmış ve 6 evin su sisteminde *L. pneumophila* pozitifliğini tespit etmişlerdi.

Alary ve Joly (1991), ’nin Quebec City bölgesinde yaptıkları bir çalışmada toplanan 178 ev su sistemi örneğinde *L. pneumophila* pozitifliği araştırılmış ve örneklerin 39%’unda pozitiflik saptanmıştır. Pozitif çıkan 69 örneğin 37%’si su ısıtıcılarından, 15%’i duş başlıklarından ve 12%’si musluklardan alınan sulardan saptanmıştır. Serogrup olarak da 2 ve 4’ün sıklıkta olduğu belirlenmiştir.

Nahapetian vd. (1991), Paris’te bulunan 5 hastanenin soğutma kulesi ve su sistemlerinden aldıkları 144 örnekten 46.5% oranında *Legionella* izole etmişlerdir.

Stout ve ark. (1992), ev su sistemlerinden aldıkları 218 örneğin 14 tanesinde *L. pneumophila* izole etmişlerdir. Bu 14 örneğin 12 tanesi serogrup 1 olarak gruplandırılırken diğer 2’si çoklu serogrup olarak gruplandırılmıştır.

Alary ve Joly (1992), 84 hastanenin 839 farklı bölgesinden 3284 sıcak su örneğinde yaptıkları çalışmada 57 hastanenin (67.9%) *Legionella* ile kontamine olduğunu belirlemişlerdir.

Reinthal vd. (1993), Avusturya’da 21 hastaneden alınan 210 su örneğinde *Legionella* cinsi bakterilerin varlığı araştırılmış ve 72 tanesinde *Legionella* izole edilmiştir.

Asbjorn ve Andersen (1995), Danimarka’daki 12 hastaneden aldıkları 35 su sistemi örneğini *Legionella* yönünden incelemiş ve 34 su sisteminde (97%) *L. pneumophila*



varlığını belirlemişlerdir.

Atlas vd. (1995), 6 ABD eyaletindeki 28 dış ünitesinden topladıkları su örneklerinde *L. pneumophila* ve *Legionella* türlerini araştırmış ve sonucunda 68% oranında *Legionella*, 8% oranında ise *L. pneumophila* tespit etmişlerdir.

Yıldırım (1996), 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.

Türetgen (1998), İstanbul civarında bulunan 7 binaya ait soğutma kulelerinden örnek almış ve 4'ünde *L. pneumophila* izole etmiştir.

Nakipoğlu ve Gürler (1999), İstanbul Tıp Fakültesi'nin 20 değişik bölümünden 100 su örneğini *Legionella* cinsi bakteriler yönünden incelemişlerdir. Alınan 100 örnekte *Legionella* cinsinden bakterilerle kolonizasyon oranı 5%, *Legionella* izolsayon oranı 6% olarak saptamışlardır.

Akbaş vd. (1999), Türkiye'nin tatil bölgelerindeki 21 otelden aldıkları 324 su örneğini incelemişlerdir. Otellerden 13'ü (61%), su örneklerinin 57'sinde (17.5%) *Legionella* izole etmişlerdir. En sık izole edilen tür *L. pneumophila* olarak belirlenmiştir.

Zeybek (2000), İstanbul civarında bulunan 139 otelin sıcak ve soğuk su sistemlerinden toplam 554 su örneğini *Legionella* açısından incelemiştir. 57 (41%) binada, 124 (22.3%) *L. pneumophila* izole etmiştir.

Leoni ve Legnani (2001), İtalya'da yaptıkları bir çalışmada 102 su örneğinin 66'sında (64.7%) *L. pneumophila* olduğunu saptamışlardır.

Erandaç ve Elaldı (2001), Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nin musluk ve duşlarından alınan 93 su örneği araştırılarak *Legionella* cinsi bakterilere rastlamamışlardır.

Köksal vd. (2002), İstanbul'da bulunana 3 eğitim hastanesinden aldıkları 61 su örneğinden 4'ünde *Legionella* izole etmiş, bunlardan 3 tanesini *L. pneumophila* serogrup 1 olarak belirlemişlerdir.

Alim (2002), İç Anadolu Bölgesi'ndeki 36 kaplıcanın 69 termal havuzundan aldığı 209 su örneğinin 24'ünde (11.5%) *L. pneumophila* pozitif olarak bulmuştur. Pozitif olan izolatların 15.4%'ü *L. pneumophila* sergrup 1, 84.6%'sı *L. pneumophila* serogrup 2-14 olarak gruplandırılmıştır.

Lück ve Liebscher (2003), Almanya'da yaptıkları bir çalışmada 77 su örneğinin 25%'inde *Legionella* izole etmişlerdir. Bunlardan 9'unu *L. pneumophila* serogrup 1, 10 tanesinin ise serogrup 2-14 olarak tiplendirmişlerdir.

Borella vd. (2004), İtalya'da yaptıkları bir çalışmada 146 örneğin 33'ünde (22.6%) *Legionella* izole etmişlerdir. İzole edilen *Legionella* türleri arasında en sık rastlanan türün 75.8% oranında *L. pneumophila* olduğunu bildirmişlerdir.

Köse vd. (2004), Antalya çevresindeki 38 turistik tesisten aldıkları 106 su örneğinin 10'unda *L. pneumophila* izole etmişlerdir.

Uzel vd. (2005), 24 otel ve 6 daireden aldıkları 168 su örneğinden 128 tanesinden *Legionella* cinsi bakteri izole etmiş ve bunlardan 110'unu *L. pneumophila* serogrup 1, 8'ini serogrup 2-14 olarak tespit etmişlerdir.

Birteksöz vd. (2006), İstanbul'da 56 binadan aldıkları 225 su örneğinin 50'sinde *L. pneumophila* izole etmişlerdir. İzole edilenlerin 16 tanesi *L. pneumophila* serogrup 1, 34 tanesi serogrup 2-14 olarak tiplendirilmiştir.

Lasheras vd. (2006), yaptıkları bir çalışmada duş başlıkları, musluk suları, sıcak su tankları ve soğutma kulelerinden aldıkları 106 örnekte 67 *Legionella spp.* tanımlamışlardır.

İğnak (2007), İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi'nden alınan 100 su örneğinin 7 tanesinde *Legionella spp.* pozitif olarak bulmuştur.

Goutziana vd. (2008), yolcu gemisi ve feribotların su dağıtım sistemleri ve klima sistemlerinden aldıkları toplam 276 örnekten 87 tane *L. pneumophila* izole etmişlerdir.

Akkaya (2009), Kayseri ilinde bulunan otel, hastane ve meskenlerden alınan 120 örnekten 8 tanesinde *Legionella* izole etmiş, bunların 5 tanesinin de *L. pneumophila* serogrup 1 olduğunu belirlemiştir.

Napoli vd. (2010), 2000-2009 yılları arasında 129 hastaneden ve 533 binadan aldıkları örneklerin incelenmesi sonucu 102 (79.1%) hastanede ve 238 (44.7%) binada *Legionella spp.* tespit etmişlerdir. Hastane ve binalardan izole edilen bakterilerden en sık rastlanan *L. pneumophila* serogrup 2-14 (hastanelerde 54.8%, binalarda 40.8%) onu takiben *L. pneumophila* serogrup 1 (hastanelerde 31.3%, binalarda 33%) olarak belirtmişlerdir.

Burak ve Zeybek (2011), İstanbul'daki 61 eve ait duş başlıklarından alınan sıcak su ve sürüntü örneklerini *L. pneumophila* yönünden araştırmışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda evlerin 21.3%'ünde *L. pneumophila* izole etmişlerdir. İzole edilenlerin 87.5%'i *L. pneumophila* serogrup 2-14, 12.5%'i *L. pneumophila* serogrup 1 olarak gruplandırılmıştır.

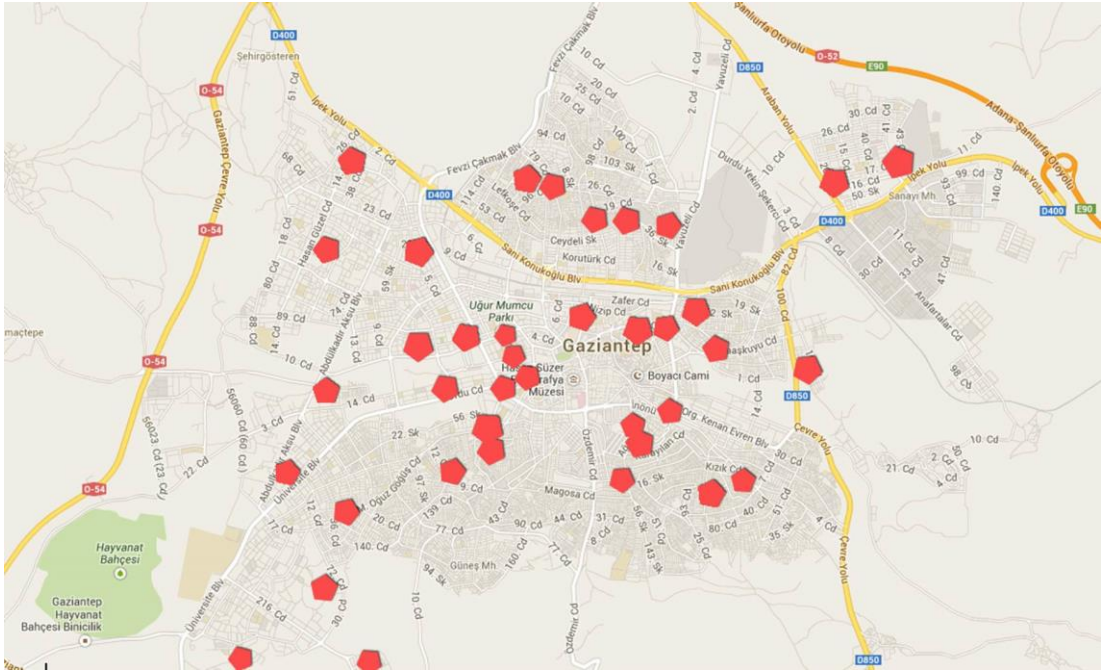
Pınarbaşı (2011), hastanelere ait 100 musluktan aldığı toplam 200 su ve sürüntü örneğini *Legionella* yönünden araştırmış ve 23 musluktan alınan 29 örnekte *Legionella spp.* izole etmiştir. İzolatların 23'ünü *L. pneumophila* serogrup 2-14, 6'sı *L.pneumophila* serogrup 1 olarak tiplendirilmiştir.

## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Örneklerin Toplanması

Kasım 2012 – Haziran 2013 tarihleri arasında Gaziantep il merkezinde bulunan 38 okul, 3 hastane ve 8 otelin; su depolarından ve lavabo musluklarından su örnekleri, duş başlıkları, musluk başlıkları ve klima filtrelerinden ise sürüntü örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler birkaç saat içerisinde laboratuvara getirilerek çalışılmıştır. Çalışma Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



**Resim 3.1.** Örnek alınan okulların haritadaki yerleşimi

Okullardan toplam 187 (59.74%), hastanelerden 27 (8.62%) ve otellerden de 99 (31.62%) olmak üzere toplam 313 su ve sürüntü örneği alınmıştır. Okul, hastane ve otellerden alınan su ve sürüntü örneklerinin dağılımları Tablo 3.1’de detaylı olarak verilmiştir.

**Tablo 3.1:** Alınan su ve sürüntü örneklerinin kaynağına göre dağılımı

Örnek Kaynağı	Örnek Tipleri					
	Depo Suyu	Musluk suyu	Musluk sürüntü	Duş başlığı sürüntü	Klima sürüntü	Toplam
Okul	23	39	83	-	42	187
Hastane	1	3	11	6	6	27
Otel	8	8	29	29	25	99
Toplam	32	50	123	35	73	313

### 3.1.1. Su Örneklerinin Toplanması

Su depolarının tahliye musluğu olanlarından tahliye musluğundan, olmayanlardan ise su deposunun içinden 250 mL'lik steril su numune şişelerine 100 mL su örneği alınmıştır. Lavabo musluklarından ise yine aynı şekilde 250 mL'lik steril su numune şişelerine 100 mL su örneği alınmıştır. Alınan örnek şişelerinin üzerine örneğin alındığı yer ve tarih yazılmıştır.

### 3.1.2. Sürüntü Örneklerinin Toplanması

Sürüntü örneklerinin alındığı steril eküvyon çubukları koymak için burgu kapaklı cam tüpler örnek almaya çıkmadan önce 121 °C'de 20 dak. otoklavda (Hirayama HV-50L, Japonya) steril edilmiştir. Musluk başlıklarından sürüntü örneği alınırken musluk hafifçe açılarak birkaç damla su akıtılmış ve ıslanması sağlanmıştır. Ardından steril eküvyon çubuk musluk ağzından içeri olabildiğince sokulmuş ve 4-5 kez çepeçevre çevrilerek sürüntü örneği alınmıştır. Alınan örnekler steril hale getirilmiş burgu kapaklı cam tüplere konmuştur. Bu tüplerin üzerine örneğin alındığı yer ve tarih yazılmıştır.

Duř bařlıklarından sűrűntű rneęi almak için de duř musluęu hafifçe açılarak birkaç damla su akıtılarak ve duř bařlıęının ıslanması saęlanmıřtır. Daha sonra steril ekűvyon çubuk duř bařlıęının tűm yűzeyine çevrilerek hafif kuvvetle sűrtűlműřtűr. Alınan sűrűntű rneęi steril burgu kapaklı cam tűpe konmuřtur ve tűplerin űzerine alınan yer ve tarih yazılmıřtır.

Klima filtrelerinden sűrűntű rneęi almak için steril ekűvyon çubuk bidistile su ile ıslatıldıktan sonra klimanın hava çıkıř filtresine çepeçevre sűrűlerek sűrűntű rneęi alınmıřtır. Alınan rnek burgu kapaklı cam tűpe konarak űzerine alınan yer ve tarih yazılmıřtır. Alınan rnekler gűneř iřıęı almadan aynı gűn laboratuvara getirilerek çalıřılmıřtır.

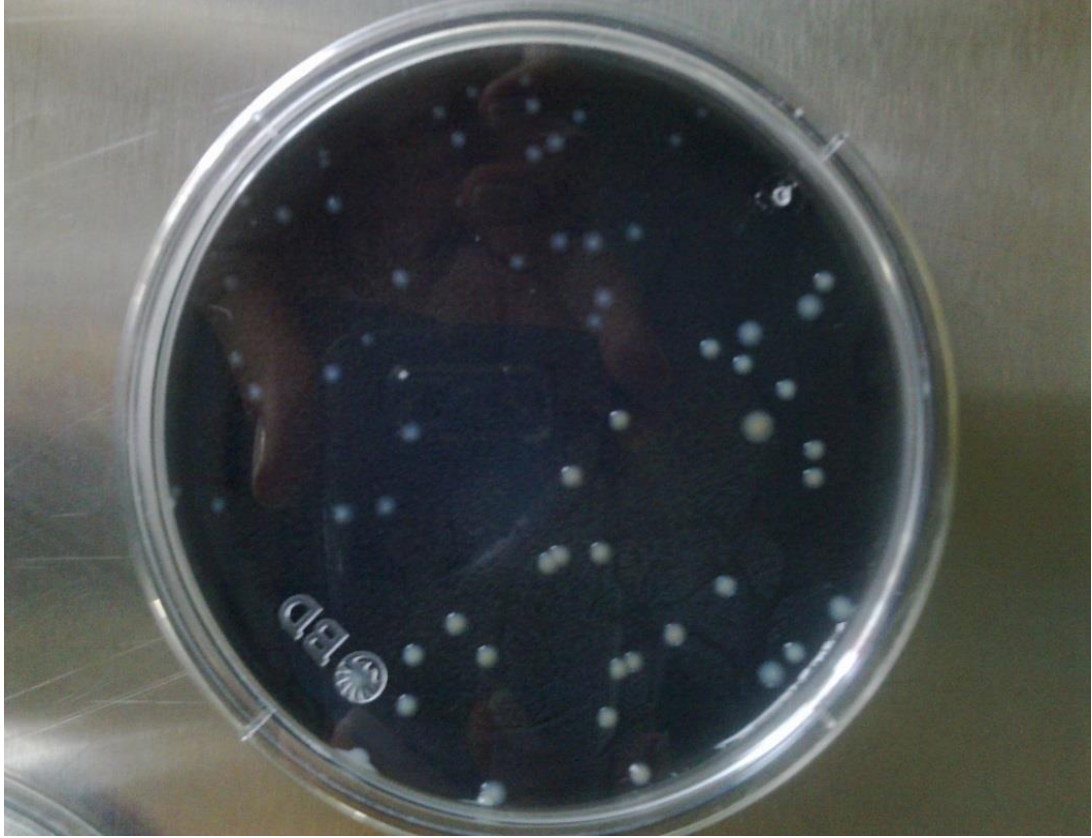
## **3.2. Bakteriyolojik Analiz**

### **3.2.1. *Legionella* İzolasyonu**

Su deposu ve musluklardan alınan su örnekleri laboratuvara getirilerek 3.500 rpm/30 dk santrifűj (Selecta, İspanya) edilerek yoęunlařtırılmıř ve sűpernatant kısmı atılmıřtır. Pellet kısmı vortekslendikten sonra alınan 0.1 mL rnek, *Legionella* cinsi bakterilerin kűltűrű için özel bir besiyeri olan Glycine-Vancomycin-Polymyxin-Cycloheximide Medium (GVPC Medium) (BD-257007, ABD) agar besiyerine ekilmiřtir. Sűrűntű rneklerinin alındıęı ekűvyon çubuklar ise GVPC Medium agar besiyerine direk olarak ekilmiřtir.

#### **3.2.1.1. *Legionella* Cinsi Bakterilerin Tanısı**

Ekim yapılan tűm petri kutuları 37 C’de 15 gűn sűreyle etűvde (Membert, Almanya) inkűbasyona bırakılmıřtır. 3. gűnden itibaren her gűn űreyip űremedikleri kontrol edilerek not edilmiřtir. Kűltűrde űreyen řűpheli koloniler gram boyama yapılarak incelemeye alınmıřtır.

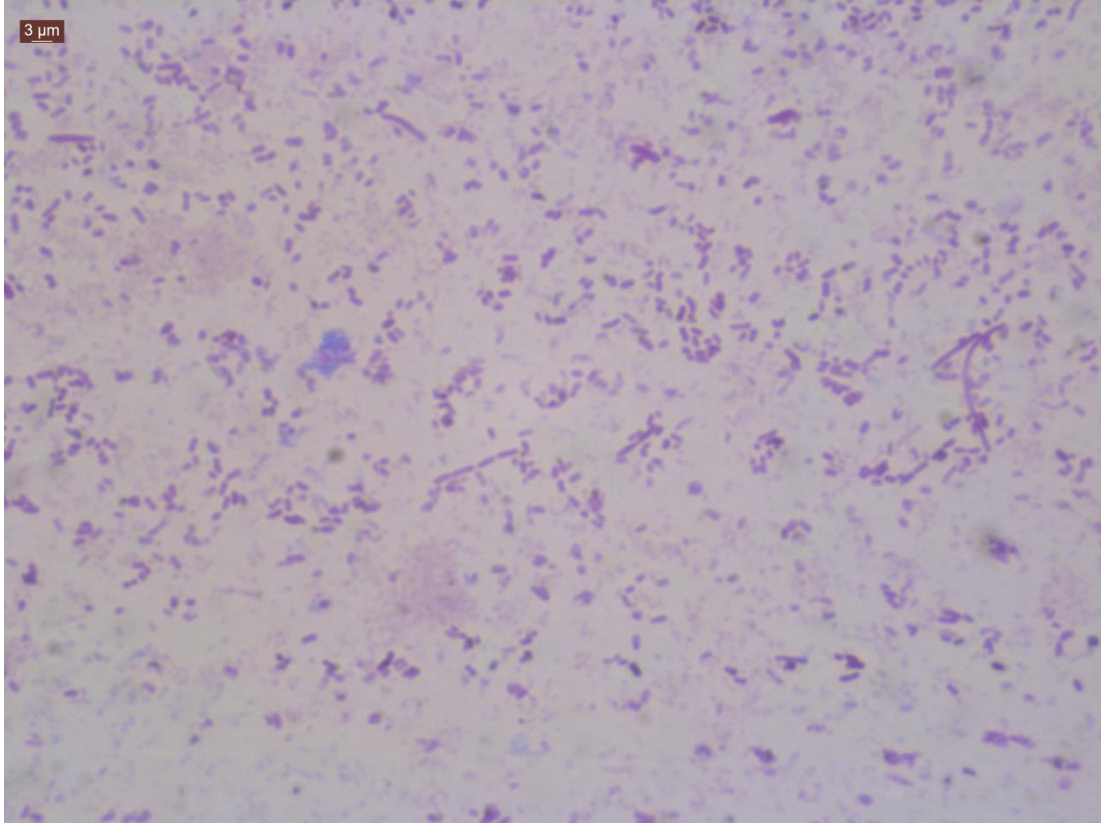


**Resim 3.2.** GVPC Medium besiyerinde üreyen *L. pneumophila* bakteri kolonilerinin görünümü

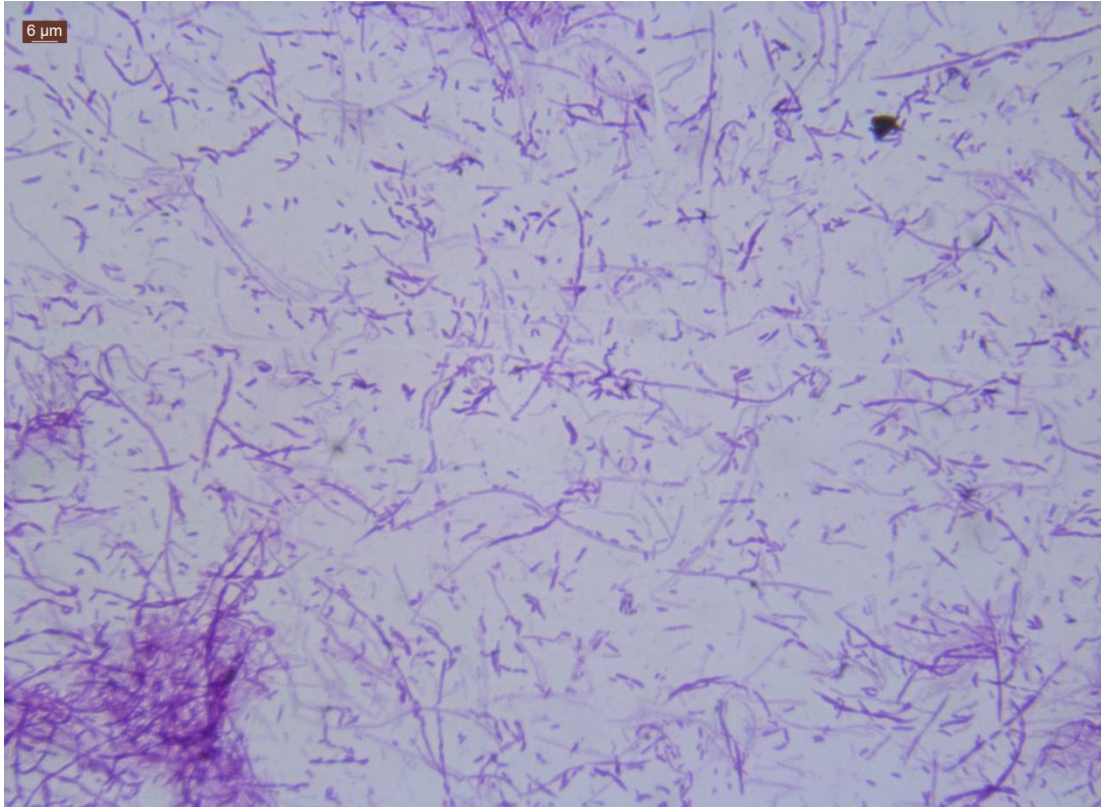
### 3.2.1.2. Gram boyama

Preperat hazırlanıp, kurutulduktan sonra alevden geçirilmiştir. Üzerine kristal viyole eklenerek ve 1dk beklenmiştir. Su ile yıkanan preperata lugol eriyiği eklenerek 1 dk bekletildikten sonra aseton-alkol ile dekolarizasyon işlemi yapılmıştır. Daha sonra 2 dk safranin ile boyanan preperat yıkanarak ışık mikroskopunda (Leica DM750, Almanya) incelenmiştir.

Gram boyama sonucu, zayıf gram negatif, çomak şeklinde bakterilerin görülmesi sonucu kültürlerdeki mukoid yapıdaki, gri beyaz görünümlü şüpheli kolonilerden Tryptone Soya Agar (TSA) (Oxoid-CM0131, İngiltere) besiyerine ve ayrıca GVPC Medium besiyerlerine pasaj edilmiştir. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır.



**Resim 3.3.** İlk izolasyonda Gram negatif çomaklar şeklinde görülen *L. pneumophila*

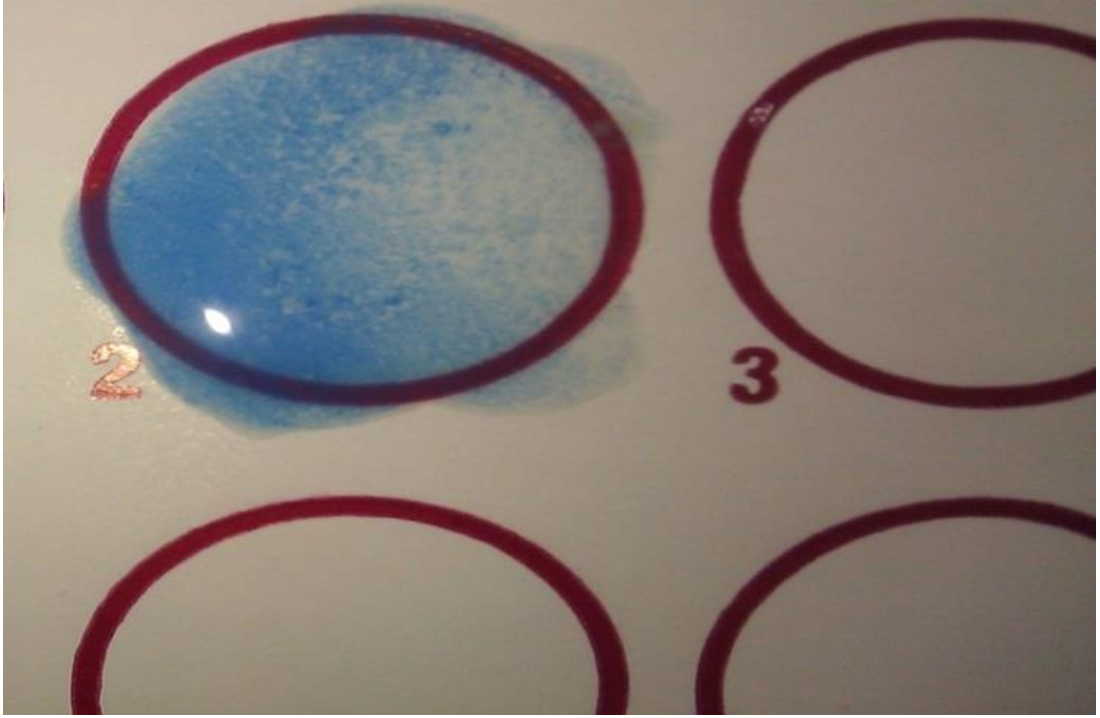


**Resim 3.4.** *L. pneumophila* bakterisinin pasajlardan sonra oluşturduğu filamanı görünüm



### 3.3. Serolojik Test

TSA besiyerinde üreme olmaması, GVPC Medium besiyerinde üreme olması durumu *Legionella* bakterisinin özelliğini yansıttığı için GVPC Medium besiyerinde üreyen koloniler *Legionella* Latex Test kiti (Oxoid-DR0800M, İngiltere) kullanılarak serolojik olarak değerlendirmeye alınmıştır. Oda sıcaklığındaki aglutinasyon kitinin sulandırma tamponundan kağıt lam üzerine bir damla damlatılmış ve şüpheli koloniden öze ile biraz alınarak bu tampon içinde homojen hale getirilerek aglutinasyon oluşup oluşmadığı gözlenmiştir. Bu işlem test kitinin kullanımından önce *Legionella* şüpheli kolonilerin otoaglutinasyon oluşturup oluşturmadıklarını test etmek için yapılmıştır. Otoaglutinasyon oluşmadığından emin olunduktan sonra karışımın üzerine 1 damla *L. pneumophila* SG 2-14 antikoruna damlatılarak 30 saniye çalkalanmıştır. Aglutinasyon gösteren örnekler *L. pneumophila* SG 2-14 olarak değerlendirilmiştir. 30 saniyeden daha geç sürede aglutinasyon veren örneklerin sonuçları negatif reaksiyon olarak kabul edilmiştir. Tüm bu işlemler *L. pneumophila* SG 1 antikoruna için de tekrar edilmiştir.



**Resim 3.5.** *L. pneumophila* SG 2-14 aglutinasyon görünümü

### 3.4. *Legionella* İzolasyonu için Kullanılan Besiyerleri

#### **Glycine-Vancomycin-Polymyxin-Cycloheximide Medium (GVPC Medium)**

Maya özütü.....	10.0gr
Ferik pirofosfat.....	0.25gr
Aces Buffer.....	10.0gr
Aktif kömür.....	2.0gr
$\alpha$ - Ketoglutarat.....	1.0gr
Agar.....	15.0gr
L-Sistein HCl.....	0.4gr
Glisin.....	3.0gr
Vankomisin.....	1.0mg
Polimiksin B.....	79200 IU
Sikloheksimid.....	0.08gr
pH.....	6.9 $\pm$ 0.2

#### **Tryptone Soya Agar (TSA)**

Tryptone.....	15.0gr
Soya peptone.....	5.0gr
Sodyum klorür.....	5.0gr
Agar.....	15.0gr
pH.....	7.3 $\pm$ 0.2

40 gr TSA besiyeri tartılıp 1000 mL distile suda çözülerek otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Hazırlanan bu besiyeri 9.0 cm çaplı petri kutularına dökülmüştür.

## BÖLÜM 4

### BULGULAR

Gaziantep il merkezinde bulunan 38 okul, 3 hastane ve 8 otelden toplam 313 örnek (32 depo suyu, 50 musluk suyu, 123 musluk sürüntüsü, 35 duş başlığı sürüntüsü, 73 klima sürüntüsü) toplanmıştır.

#### 4.1. Bakteriyolojik Bulgular

Gaziantep il merkezinde bulunan 38 okuldan alınan; 23 depo suyu örneğinin 21.37%'sinde, 83 musluk sürüntü örneğinin 16.86%'sında ve 42 klima sürüntü örneğinin 4.76%'sında *Legionella* ürediği görülmüştür. Bu okulların musluk sularından alınan örneklerde üreme olmadığı tespit edilmiştir. Bu okullar da depo suyu kullanılmadığı, şehir şebeke suyu kullanıldığı belirlenmiştir. Örnek alınan 38 okuldan 15 (39.47%)'inin *L. pneumophila* ile kolonize olduğu saptanmıştır

**Tablo 4.1.:** Okullarda izole edilen *L. pneumophila*'nın kaynağına göre dağılımı

Örnek Kaynağı	Alınan Toplam Örnek Sayısı	<i>Legionella pneumophila</i> İzole Edilen Örnek Sayısı
Depo Suyu	23	5(21.73%)
Musluk Suyu	39	-
Musluk Sürüntüsü	83	14(16.86%)
Klima Sürüntüsü	42	2(4.76%)

Gaziantep il merkezinde bulunan 3 hastaneden alınan; 3 musluk suyu örneğinin 66.66%'sinde, 11 musluk sürüntü örneğinin 36.36%'sında ve 6 duş başlığı sürüntü örneğinin 83.33%'ünde *Legionella* bakterisinin ürediği gözlenmiştir. Bu hastanelerin klima sürüntü örneklerinde ve depo sularında üreme olmadığı gözlenmiştir. Örnek alınan hastanelerin 2 tanesinde *L. pneumophila* pozitif olarak belirlenmiştir.

**Tablo 4.2.:** Hastanelerde izole edilen *L. pneumophila*'nın kaynağına göre dağılımı

Örnek Alınan Yer	Alınan Toplam Örnek Sayısı	<i>Legionella pneumophila</i> İzole Edilen Örnek Sayısı
Depo Suyu	1	-
Musluk Suyu	3	2(66.66%)
Musluk Sürüntüsü	11	4(36.36%)
Duş başlığı Sürüntüsü	6	5(83.33%)
Klima Sürüntüsü	6	-

Gaziantep il merkezinde bulunan 8 otelden alınan; 8 depo suyu örneğinin 62.5%'inde, 8 musluk suyu örneğinin 50'sinde, 29 musluk sürüntü örneğinin 68.96%'sında, 29 duş başlığı sürüntü örneğinin 86.2%'sinde ve 25 klima sürüntü örneğinin 28%'inde *L. pneumophila* bakterisi tespit edilmiştir. Örnek alınan otellerin tamamından *L. pneumophila* izole edilmiştir.

**Tablo 4.3.:** Otellerde izole edilen *L. pneumophila*'nın kaynağına göre dağılımı

Örnek Alınan Yer	Alınan Toplam Örnek Sayısı	<i>Legionella pneumophila</i> İzole Edilen Örnek Sayısı
Depo Suyu	8	5(62.50%)
Musluk Suyu	8	4(50.00%)
Musluk Sürüntüsü	29	20(68.96%)
Duş Başlığı Sürüntüsü	29	25(86.20%)
Klima Sürüntüsü	25	7(28.00%)

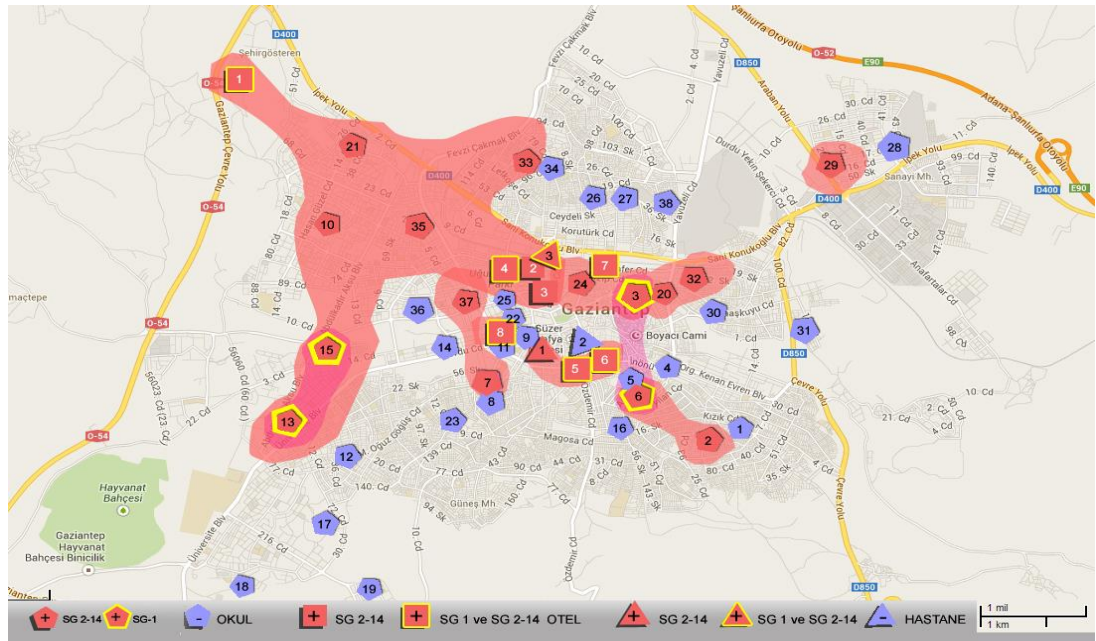
#### 4.2. Serolojik Bulgular

Okullardan alınan örneklerde üretilen 21 *Legionella* kolonisinde yapılan lateks aglütinasyon testi sonucu 17(80.95%) tanesinin *L. pneumophila* serogrup 2-14 olduğu, 4 (19.04%) tanesinin *L. pneumophila* serogrup 1 olduğu belirlenmiştir. Hastanelerden alınan örneklerde üretilen 11 *L. pneumophila* kolonisinin 10 (90.9%) tanesinin *L. pneumophila* serogrup 2-14 olduğu ve 1 (9.09%) tanesinin *L. pneumophila* serogrup 1 olduğu belirlenmiştir. Otellerden alınan örneklerde üretilen 61 *L. pneumophila* kolonisinden 47 (77.04%) tanesinin *L. pneumophila*

serogrup 2-14, 14 (22.95%) tanesinin *L. pneumophila* serogrup 1 olduğu gözlenmiştir.

**Tablo 4.4.: *L. pneumophila* serogruplarının örnek kaynağına göre dağılımları**

Örnek Kaynağı	Örnek Tipi	İzole Edilen Suş Sayısı	Serogrup	
			1	2-14
Okul	Depo suyu	5(21.73%)	1(20%)	4(80%)
	Musluk sürüntü	14(16.86%)	3(21.42%)	11(78.57%)
	Klima sürüntü	2(4.76%)	-	2(100%)
Hastane	Musluk suyu	2(66.66%)	-	2(100%)
	Musluk sürüntü	4(36.36%)	1(25%)	3(75%)
	Duş başlığı sürüntü	5(83.33%)	-	5(100%)
Otel	Depo suyu	5(62.5%)	1(20%)	4(80%)
	Musluk suyu	4(50%)	2(50%)	2(50%)
	Musluk sürüntü	20(68.96%)	3(15%)	17(85%)
	Duş başlığı sürüntü	25(86.2%)	3(12%)	22(88%)
	Klima sürüntü	7(28%)	5(71.42%)	2(28.57%)
<b>Toplam</b>		<b>93</b>	<b>19</b>	<b>74</b>



**Resim 4.1. Okul, hastane ve otellerde saptanan serogrupların haritada görünümü**

## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Legionellaceae ailesinde yaklaşık 50 tür bulunmaktadır. Bunların yarısından çoğu insanlarda ortaya çıkan lejyoner hastalığından sorumludur. İnsanlarda ortaya çıkan lejyoner hastalığı olgularının 90%'ından *L. pneumophila*'nın neden olduğu belirlenmiştir (Fields vd., 2002).

İnsan yapımı su sistemleri *L. pneumophila* bakterilerinin yaşama ve çoğalması için uygun ortamlar olduğundan dolayı bu alanlarda kolonize olmaktadır. Suyun sıcaklığı, pH değeri, durgunluğu ve içinde bulunan mikroorganizmalar *L. pneumophila*'nın yaşamını etkilemektedir (FWR, 2001). Doğada nehir, göl gibi alanlarda sayıları az iken, çok katlı binaların su sistemlerinin geçtiği boru ve depoların biyofilm tabakalarında serbest yaşayan amiplerin içerisinde uygun yaşam koşulları olduğundan dolayı sayıları fazladır (Abu Kwaik ve Gao, 1998).

Çevre örneklerinden *Legionella* cinsi bakterilerin izolasyonu için standart kültür yöntemi bulunmamaktadır. Farklı kuruluşlar örneklerin toplanması, konsantrasyonu, dekontaminasyonu ve kültürü gibi konularda çeşitli yöntemler uygulamaktadırlar. (Bartie vd., 2003). Araştırmamızda alınan su örnekleri santrifüj ile yoğunlaştırılarak selektif GVPC *Legionella* besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Üreme görülen örneklerden TSA'ya pasajlar yapılarak kontrolleri yapılmış ve serolojik olarak tiplendirme yöntemi tercih edilmiştir.

*L. pneumophila*'nın yaşam alanlarının su sistemleri olması nedeniyle ülkemizde ve dünyada su sistemleri *L. pneumophila* varlığı açısından incelenmiş hatta su kalitesi için kriter durumundadır.

Ülkemizde İstanbul bölgesinde Çotuk vd. (1998), tarafından toplu yaşam alanlarındaki sıcak ve soğuk su sistemlerinde *L. pneumophila* varlığını araştırılmış ve

sadece otellerde 15 *L. pneumophila* saptamışlardır. Bunların 3'ü *L. pneumophila* serogrup 1, iken 12'sinin ise *L. pneumophila* serogrup 2-14 olduğunu rapor etmişlerdir.

*L.pneumophila*'nın su sistemlerindeki yaşam alanı Gaziantep ili açısından değerlendirildiğinde 85.7% ile duş başlarının en önemli yaşam alanı olduğu, ikinci sırada 28.5% ile musluk başlarının olduğu ve 27.02% ile üçüncü sırada depo sularının olduğu saptanmıştır. Klima sürüntüsü ve musluk sularının ise 12% oranında bir rezervuar durumunda olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre *L. pneumophila* oluşturdukları biyofilm tabakası sayesinde duş ve musluk başlıklarında tutunabilmekte ve buralarda kolonize olabilmektedir. Dolayısıyla toplu yaşam alanlarında sık sık özellikle duş ve musluk başlıklarında oluşan biyofilm tabakalarının temizlenmesinin *L. pneumophila* rezervuarlarının indirgenmesi açısından önem taşımaktadır.

Ülkemizde yapılan *L. pneumophila* ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında yapılan araştırmalar ülke genelinde yaygın değildir. Daha çok İstanbul olmak üzere; İzmir Eskişehir, Antalya, Alanya, Sivas ve Kayseri olmak üzere çok az sayıda ili kapsayan çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların çoğu otel ve hastaneleri kapsarken okul su sistemlerini dahil edildiği çalışmalar mevcut değildir. Çalışmamızda 38 okulun su sistemleri *L. pneumophila* açısından araştırılmış olup 15 okulda *L. pneumophila* kolonizasyonu saptanmıştır. Okulların Gaziantep ilinde yerleşim yerleri incelendiğinde birbirine yakın olan aynı hatlardaki okullarda kolonizasyon olduğu görülmüştür. Dolayısıyla Gaziantep ili şebeke sistemi çalışma sonuçları dikkate alınarak iyileştirme çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Yurt dışında birçok yerde hastane su sistemlerine yönelik *L. pneumophila* varlığı araştırılmış ve *L. pneumophila* kolonizasyonu gösterilmiştir (Reinthal, 1993; Yıldırım, 1996; Taseuro vd., 2010).

Çalışmamızda hastanelerden alınarak incelenen su ve sürüntü örneklerinin 44.4%'ünde *L. pneumophila* saptanmış olup kolonizasyonları gösterilmiştir. Hastanelerin su ve su sistemlerinin özellikle biyofilm oluşturan kısımlarını temizlenmesi ve rutin kontrollerin yapılması gerekmektedir.

Otellerde yönelik yapılan birçok araştırmada ise; su ve sistemlerine yönelik yapılan araştırmalar mevcut olup kolonizasyon rapor edilmiştir (Akbaş vd., 1999; Zerbek, 2010; Erdoğan ve Arslan, 2013).

İlimizdeki otellerden alınan örneklerde duş ve musluk sürüntü örneklerinde sırasıyla 86.2% ve 68.96% gibi çok yüksek kolonizasyon saptanmıştır. Bu açıdan özellikle otellerin su sistemlerinin temizlenerek kontrollerinin yapılması önemli bir ihtiyaç olduğu görölmektedir.

Sonuç olarak Gaziantep ili okul hastane ve otel su ve su sistemleri *L. pneumophila* kolonizasyonu açıdan araştırılmış rezervuar durumları ortaya konulmuştur. Gaziantep su şebekesine yönelik ciddi veriler sağlayan sonuçlara ulaşılmıştır. Sonuçlar dikkate alınarak su şebekesi yapılacak iyileştirmeler için önemli katkılar sağlayacak bulgular ortaya konulmuştur.



## KAYNAKLAR

- Abu Kwaik, Y., Gao, Lian-Yong, (1998). Invasion of Protozoa by *Legionella pneumophila* and Its Role in Bacterial Ecology and Pathogenesis, *Appl Environ Microbiol.* **64 (9)**, 327-3133.
- Akalın, H.E. (1993). Atypical pneumonias: Therapeutic possibilities. *Int J Antimicrob Agents.* **3**, 75.
- Akbaş, E. (1996). *Legionellaceae*; Intracellüler Parazitizm. *Mikrobiyol Bolt*, **30**, 313-322.
- Akbas, E., Dalkılıç, I., Gözalan, A., Güvener, E. (1999). Otel su sistemlerinde *Legionella spp.*: Ege ve Akdeniz bölgelerinde bir çalışma. *Flora.* **4**, 258-266.
- Akkaya, Z. (2009). Kayseri'deki Farklı Binaların Su Depolarında *Legionella* Araştırılması. *Yüksek lisans tezi*, Kayseri Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Alary, M., Joly, J.R. (1991). Risk Factors for Contamination of Domestic Hot Water Systems by *Legionellae*. *Appl Environ Microbiol.* **57 (8)**, 2360-2367.
- Alary, M., Joly, J.R. (1992). Factors Contributing to the Contamination of Hospital Water Distributin on Systems by *Legionella*. *J Infect Dis.* **165**, 565-569.
- Alim, A. (2002). İç Anadolu Bölgesinde Bulunan Kaplıcaların Termal Havuz Sularında *Legionella pneumophila* Araştırması. *Doktora Tezi*, Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas.
- Arvand, M., Jungkind, K., Hack, A. (2011). Contamination of the Cold Water Distribution Systems of Health Care Facilities by *Legionella pneumophila*: Do We Know the True Dimension. *Euro Surveill.* **16(16)**, 19844.
- Asbjorn, J., Andersen, H.K. (1995). *Legionella pneumophila* in the hot water system of Danish hospitals and institutions. A questionnaire study and a random sample test. *Ugeskr. Laeger.* **157**, 586-590.
- Atlas, R.M., Williams, J.M., Huntington, M.K. (1995). *Legionella* contamination of dental-unit waters. *Appl Environ Microbiol.* **61**, 1208-1213.
- Barbaree, J.M., Fields, B.S., et al. (1986). Isolation of protozoa from water associated with a legionellosis outbreak and demonstration of intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* **51**, 42-424.

Barbaree, J.M., Gorman, G.V., Martin, W.T., Fields, B.S., Morrill, W.E. (1987). Protocol for Sampling Enviromental Sites for *Legionellae*. *Appl Enviro Microbiol.* **53**, 1454-1458.

Baron, E.J., Finegold, S.M. (1990). Unclassified or Unusal but Easily Cu1tivated Etiologic Agents of Infectious Disease,. p.578-583. 8th Edition, Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology,. C.V. Mosby Company.

Bartie, C., Venter, S.N., Nel, L.H. (2003). Identification methods for *Legionella* from environmental samples. *Wat Res.* **37**: 1362-1370.

Birteksöz, A.S., Zeybek, Z., Çotuk, A. (2006). *Legionella pneumophila* suşlarına karşı çeşitli antibiyotiklerin in-vitro etkilerinin araştırılması, poster bildirisi, *Ankem Derg.* **20**, 13.

Borella, P., Montagna, M.T., Romano-Spica, V., et al. (2004). Legionella infection risk from domestic hot water. *Emerg Infect Dis.* **10**: 457-464.

Breiman, R.F., Fields, B.S., Sanden, G.N., Wolmer, L., Meier, A., Spika, J.S. (1990). Association of Shower use with Legionnaires' Disease. *JAMA.* **263** (21), 2924-2926.

Brenner, D.J., Steigerwalt, A.G., McDade, J.E. (1979). Classification of the Legionnaires' Disease Bacterium: *Legionella pneumophila*, Genus, Novum, Species Nova, of the Family *Legionellaceae*, Familia Nova. *Ann Intern Med.* **90**, 656-658.

Burak, D.M., Zeybek, Z. (2011). Investigation of *Legionella pneumophila* and Free Living Amoebas in the Domestic Hot Water Systems in İstanbul. *Turk J Biol.* **35**, 679-685.

Chandler, F.W., Cole, R.M., Et al. (1979). Ultrastructure of the Legionnaires' disease bacterium. A study using transmission electron microscopy. *Ann Intern Med.* **90**, 642-647.

Çotuk, A., (1998). Su sistemlerinde Lejyoner Hastalık etkeni bakterilerin kontrolü, *Kükem Derg.* **21(3)**, 13-16.

Çotuk, A., Zeybek, Z., Kimiran, A., Türetgen, İ., Kalaç, Y. (1998). Farklı binaların su sistemlerinde *Legionella pneumophila* izolasyonu. *Kükem Derg.* **21(3)**, 7-12.

Edelstein, P.H. (1982). Comprative study of selective media for of *Legionellla pneumophila* from potable water. *J Clin Microbiol.* **16**, 697-699.

Edelstein, P.H., Beer, K.B., et al. (1985). Clinical utility of a monoclonal drect fluorescent reagent spesific for *Legionella pneumophila*: comparative study with other reagents. *J Clin Microbiol.* **22**, 419-421.

Erandaç, M., Elaldı, N. (2001). Hastane Musluk ve Duş Sularında *Legionella* Cinsi Bakterilerin Araştırılması. *CMJ.* **23** (2), 81-83.

Erdem, B. *Legionella*. Ustaçelebi S., ed. (1999). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji'de*. Ankara: Günes Kitabevi. 559-66.

Erdoğan, H., Arslan, H. (2013). Yeni Açılan Bir Otelde Ortaya Çıkan *Legionella* Salgınının İrdelenmesi *Mikrobiyol Bul.* **47 (2)**, 240-249.

Faris, B., Faris, C., Schousboe, M., Heath, C. H., (2005). Legionellosis from *Legionella pneumophila* serogroup 13, *Emerg Infect Dis.* **11 (9)**, 1405-1409.

Feeley, J.C., Gibson, R.J., et al. (1991). Charcoal-yeast extract agar: primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol.* **10**, 437-441.

Fields BS, Benson RF, Besser RE. (2002). Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev.* **15**, 506-26.

Fraser, D.W., Tsai, T.R. et al. (1977). Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med.* **97**, 1189-1197.

FWR. Foundation for Water Research. (2001). A Review of Current Knowledge: Legionella of the Current Environment (The Cause of Legionnaires' disease). 6. p. Available at: <http://www.fwr.org/legionla.pdf>

Greer, P.W., Chandler, F.W., Hicklin, M.D. (1980). Rapid demonstration of *Legionella pneumophila* in unembedded tissue. An adaptation of the Gimenez stain. *Am J Clin Pathol.* **73**, 788-790.

Goutziana, G., Mouchtouri, V.A., Karanika, M., Kavagias, A., Stathakis, N.E., Gourgoulisanis, K., Kremastinou, J., Hadjichristodoulou, C. (2008). Legionella Species Colonization of Water Distribution Systems, Pools and Air Conditioning Systems in Cruise Ships and Ferries. *BMC Public Health.* **8**, 390.

Hackman, B.A., Plouffe, J.F., et al. (1996). 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.* **34**, 1579-1580.

Harrison, T.G., Saunders N.A. (1994). Taxonomy and typing of *Legionellae*. *Rev Med Microbiol.* **5**, 79-90.

Harrison, T.G., (2006). *Legionella*, Topley and Wilsons Microbiology and microbial Infections 10th Edward Arnold (publishers) Ltd. London. pp 1761-1785.

Health & Safety Series Booklet (1991). The Control of Legionellosis Including Legionnaires' Disease. *HMSO HS(G) 70*, London.

Hsu, S. C., Msrtin, R., Wentworth, B. B. (1984). Isolation of *Legionella* species from drinking water. *Appl Environ Microbiol.* **48 (4)**, 830-832.

İgnak, S. (2007). İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi su sistemlerinde *Legionella* cinsi bakterilerin araştırılması. *Yüksek lisans tezi*, İstanbul Tıp Fakültesi.

- Inoue, H., Kawano, G., Nagasawa, H., Sakuda, S. (2002). Isolation of elemental sulfur as a self-growth-inhibiting substance produced by *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* **68** (10), 4809-4811.
- Katz, S.M., Hammel, J.M. (1987). The Effect of Drying, Heat and pH on the Survival of *Legionella pneumophila*. *Ann Clin Lab Sci.* **17** (3), 150-156.
- Kantaroğlu, Ö. (2006). Sıhhi Tesisat Sistemlerinde Lejyonella Hastalığı. *Tesisat Mühendisliği Dergisi.* **93**, 53-58.
- Kayabek, Y. (2002). Legionellosis. Antalya: DrYK Danışmanlık Hizmetleri, 21p.
- Kim, B.R., Anderson, J.E., Mueller, S.A., Gaines, W.A., Kendall, A.M. (2002). Literature reviewefficac of various disinfectants against *Legionella* in water systems. *Water Res.* **36**, 4433- 4444.
- Köksal, F., Oguzkurt, N., Samastı, M. (2002). İstanbul'da üç egitim hastanesinin depo ve musluk sularında *Legionella* bakterilerinin araştırılması. *Klimik Derg.* **15** (1), 16-18.
- Köse, E.O., Öngüt, G., Ögünç, D., Vural, T. (2004). Antalya ili otel su sistemlerinden alınan su örneklerinde *Legionella pneumophila* araştırılması. *Turkish J Infect.* **18**, 143-147.
- Kurtz, J.B., Bartlett, C.L.R., White, R.A., Newton, U.A., Jones, N.L. (1982). *Legionella pneumophila* in Cooling Water Systems. *J. Hyg., Camb.* **88**, 369
- Lasheras, A., Boulestreau, H., Rogues, A.M., Ohayon-Courtes, C., Labadie, J.C., Gachie, J.P. (2006). 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.* **34**, 520-525.
- Lee, T.C., Stout, J.E., Yu, V.L. (1988). Factots Predisposing to *Legionella pneumophila* Colonization in Residential Water Systems. *Arch Environ Heal.* **43** (1), 59-62.
- Leoni, E., Legnani, P.P. (2001). Comparison of selective procedures for isolation and enumeration of *Legionella* species from hot water systems. *J Appl Microbiol.* **90**, 27-33.
- Lim, W.S., Macfarlene, J.T., et al. (2001). Study of community acquired pneumonia aetiology (SCAPA) in adults admitted to hospital: implications for management guidelines. *Thorax.* **56**, 296-301.
- Luck, P.C., Liebscher, B. (2003). Detection of *Legionella pneumophila* in water samples by quantitative culture and an antigen detection assay. *Int J Hyg Environ Health.* **206**, 201-204.

- McDade, J.E., Shepard, C.C., et al. (1977). Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *N Engl J Med.* **297**, 1197-1203.
- Muder, R.R., Yu, V.L. (2002). Infection due to *Legionella* species other than *L. pneumophila*. *Emerg infect.* **35**, 990-998.
- Muller, H.E. (1981). Enzymatic profile of *Legionella pneumophil.* *J Clin Microbiol.* **13** (3), 423-426.
- Nahapetian, K., Challemel, O., Beurtin, D., Dubrou, S., Guonon, P., Squanizi, F. (1991). The Intracellular Multiplication of *Legionella pneumophila* in Protozoa from Hospital Plumbing Systems. *Res Microbiol.* **142**, 677-685.
- Nakipoğlu, Y., Gürler, B. (1999). İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesinde Kullanılan Sularda *Legionella* Cinsi Bakterilerin Araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* **30**, 97-104.
- Napoli, C., Fasano, F., Iatta, R., Barbuti, G., Cuna, T., Montagna, M.T. (2010). *Legionella* spp. and Legionellosis in Southeastern Italy: Disease Epidemiology and Environmental Surveillance in Community and Health Care Facilities. *BMC Public Health.* **10**, 660.
- Plouffle, J.F., Webster, L.R., Hackman, B. (1983). Relationship Between Colonization of Hospital Buildings with *Legionella pneumophila* and Hot Water Temperatures. *Appl Environ Microbiol.* **46**, 769-770.
- Plouffle, J.F., File, T.M., Breiman, R.F. (1995). Reevaluation of the definition of Legionnaires' disease: use of urinary antigen assay. *Clin Infec Dis.* **20**, 1286-91.
- Pınarbaşı, M. (2011). Eskişehir'de Klinik Örneklerde ve Sularda *Legionella* spp. Araştırılması. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Quaranta, G., Vincenti, S., Ferriero, M.A., Boninti, F., Sezzatini, R., Turnaturi, C., Gliubizzi, M.D., Munafo, E., Ceccarelli, G., Cuasarano, C., Accorsi, M., Del Nord, P., Ricciardi, W., Laurenti, P. (2012). *Legionella* on Board Trains: Effectiveness of Environmental Surveillance and Decontamination. *BMC Public Health.* **12**, 618.
- Reinthal, F.F., Sattler, J., Schaffler-Dullnig, K., Weinmayr, B., Marth, E. (1993). Comparative study of procedures for isolation and cultivation of *Legionella pneumophila* from tap water in hospitals. *J Clin Microbiol.* **31**, 1213-1216.
- Rodgers, F.G., Greaves, P.W., Macrae, A.D. (1979). Flagella and fimbriae on *Legionella* organisms. *The Lancet.* **2**, 753-754.
- Rodgers, F.G., Greaves, P.W., et al. (1980). Electron microscopic evidence of flagella and pili on *Legionella pneumophila*. *J Clin Pathol.* **33**, 1184-1188.

- Sopena, N., Sabria-Leal, M., et al. (1998). Comparative study of the clinical presentation of *Legionella pneumonia* and other community-acquired pneumonias. *Chest*. **113**, 1195-2000.
- Stone, B.J., Abu Kwaik, Y. (1998). 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*. **66**, 1768-1775.
- Steinert, M., Hentschel, U., Hacker, J. (2002). *Legionella pneumophila*: an aquatic microbe goes astray. *FEMS Microbiology Reviews*. **26**, 149-162.
- Stout, J.E., Yu, V.L., Yee, Y.C., Vaccarello, S., Diven, W., Lee, T.C. (1992). *Legionella pneumophila* in residential water supplies: Environmental surveillance with clinical assesment for Legionnaires' disease. *Epidemiol Infect*. **109**, 49-57.
- Stout, J.E., Rihs, J.D., Yu, V.L. *Legionella*. içinde Murray, P.R., editor. (2003). *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington DC: ASM pp: 809-823.
- Terranova, W., Cohen, M.L., Fraser, D.W. (1978). Outbreak of Legionnaires' disease diagnosed in 1977. Clinical and epidemiological features. *The Lancet*. **2**, 122-124.
- Tesauro, M., Bianchi, A., at al. (2010). Environmental surveillance of *Legionella pneumophila* in two Italian hospitals. *Ann Ist Super Sanità*. **46 (3)**, 274-278.
- Toze, S., Sly, LI., Macrae, LC., Fuerst, J.A. (1990). Inhibition of Growth of *Legionella* Species by Heterotrophic Plate Count Bacteria Isolated from Chlorinated Drinking Water. *Cwr Microbiol*. **21**, 139-143.
- Tugrul, H.M. *Legionella* türleri. In: Serter, D., Ertem, E., Gökengin, D., (eds). (2000). *Başlıcan Bakteriyel, Paraziter ve Mikotik Enfeksiyon Hastalıkları*. Nobel Tıp Kitabevleri, İzmir. s: 308-312.
- Türetgen, İ. (1998). Soğutma kulelerinin suyunda *Legionella* cinsi bakterilerin araştırılması. *Yüksek lisans tezi*, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Uzel, A., Uçar, F., Hames-Kocabas, E. (2005). Prevalence of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in water distribution systems in İzmir province of Turkey. *APMIS*. **113**, 664-669.
- Vickers, R.M., Yu, V.L., Hanna, S.S., Muraca, P., Diven, W., Carmen, N., Taylor, F.B. (1987). Determinants of *Legionella pneumophila* Contamination of Water. Distribution Systems: 15-Hospital Prospective Study. *Infect Control*. **8 (9)**, 357-363.
- Winn, W.C., Koneman, E.W., Stephen, D.A., Gary, W.P., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Woods, G.L. (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins.

Wintermayer, E., Rdest, U., Ludwig, B., Debes, A., Hacker, J. (1991). Characterization of Legiolysin (lly), Responsible for Haemolytic Activity, Colour Production and Fluorescence of *Legionella pneumophila*. *Mol Mic.* **5** (5), 1135-1143.

Wellinghausen, N., Frost, C., Marre, R. (2001). Detection of *Legionella* in hospital water samples by quantitative real-time PCR. *Appl Environ Microbiol.* **67** (9), 3985-3993.

Yıldırım Yürekoğlu, İ. (1996). Şişli Etfal Hastanesi Su Sisteminde *Legionella pneumophila* ve Diğer *Legionella* Türlerinin Araştırılması. *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Sağlık Bakanlığı, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.