



T.C

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TRABZON İLİ BİNALARININ SU SİSTEMLERİNDE *Legionella*
ARAŞTIRILMASI

UĞUR AYHAN

TEZ DANIŞMANI
DR.ÖĞR.ÜYESİ NEJLA CEBECİ GÜLER

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI

GİRESUN-2020

T.C
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRABZON İLİ BİNALARININ SU
SİSTEMLERİNDE *Legionella* ARAŞTIRILMASI

UĞUR AYHAN

TEZ DANIŞMANI
DR.ÖĞR.ÜYESİ NEJLA CEBECİ GÜLER

Giresun Üniversitesi ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Ortak Yüksek Lisans Tezi

GİRESUN-2020


Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürünün onayı.

09/04/2020


Prof.Dr.Ayşegül ÇEBİ

Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylıyorum.


Prof.Dr.Cihangir AKDEMİR
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gereklerini yerine getirdiğini onaylıyorum.


Dr.Öğr.Üyesi Nejla ÇEBECİ GÜLER
Danışman

Jüri Üyeleri ve Üniversiteleri

Prof.Dr.Gülnur TARHAN

Adıyaman Üniversitesi

Prof.Dr.Cihangir AKDEMİR

Giresun Üniversitesi

Dr.Öğr.Üyesi Nejla ÇEBECİ GÜLER

Giresun Üniversitesi

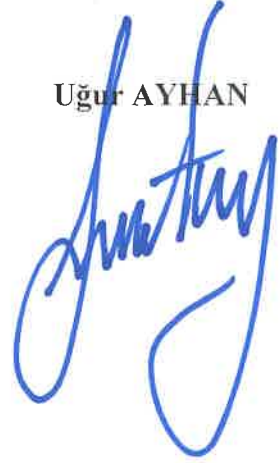




TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Uğur AYHAN



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam sürecinde her türlü desteğini, bilgi, birikim ve tecrübesini esirgemeyen, her daim yanımda olan çok kıymetli danışmanım Dr.Öğr. Üyesi Nejla CEBECİ GÜLER'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimde kendisini tanımaktan onur duyduğum, mesleki ve sosyal alanda tecrübelerinden yararlandığım Anabilim Dalı başkanı saygıdeğer Prof.Dr. Cihangir AKDEMİR'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca ders aldığım değerli hocalarım Prof.Dr.Ayşegül ÇEBİ'ye, Prof.Dr.Osman Birol ÖZGÜMÜŞ'e, Doç.Dr.Emel UZUNOĞLU KARAGÖZ'e, Doç.Dr.Şahin DİREKEL'e, Doç.Dr.Ayşegül ÇOPUR ÇİÇEK'e ve Dr.Öğr.Üyesi Saliha EKŞİ'ye göstermiş oldukları sabır, vermiş oldukları emek için sonsuz teşekkür ederim.

Trabzon Halk Sağlığı Laboratuvarı Müdürü Kimyager Turhan SULA'ya Biyolog M.Metehan OKUMUŞ'a Laboratuvar Teknikeri Emre KURT'a her türlü destekleri ve yardımları için teşekkür ederim.

Her koşulda ve her zaman maddi ve manevi desteği ile yanımda olan eşim Gülşen AYHAN'a, Annem Sevim AYHAN'a, babam Yunus AYHAN'a, Kardeşlerim Numan AYHAN'a, Serpil HANÇER'e, Osman AYHAN'a, Semiha AYHAN'a, Nurgül AYHAN'a ve Mustafa HANÇER'e, yeğenlerim Bilge HANÇER'e, Yasin HANÇER'e, Sude AYHAN'a ve Elif Buse AYHAN'a sonsuz teşekkür ederim.

“Başta Mustafa Kemal ATATÜRK olmak üzere aziz vatanımız için canını ortaya koyan tüm gazi ve şehitlerimize ve büyük Türk Milletine İthaf ediyorum”

İçindekiler

TEZ ONAYI	i
TEZ BİLDİRİMİ.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İTHAF	iv
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
SEMBOLLER, KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe.....	2
2.2. Sınıflandırma	3
2.3.Morfolojik Özellikler	5
2.4. <i>Legionella</i> Ekolojisi	6
2.5.Enfeksiyon Kaynakları	8
2.6. Bulaş Yolları.....	8
2.7. Antijen Yapısı.....	9
2.8. Virülans ve Patojenite	9
2.9. Klinik Hastalıklar	12
2.9.1. Lejyoner Hastalığı	12
2.9.2. Pontiac Ateşi.....	13
2.9.3. Subklinik Enfeksiyon	14
2.9.4. Akciğer Dışı Enflamatuvar Hastalık.....	14

2.10. Laboratuvar Tanısı	14
2.10.1. Direk Boyama.....	14
2.10.2. Kültür.....	14
2.10.3. Serolojik Yöntemler.....	16
2.10.4 Polimer Zincir Reaksiyonu (PCR).....	17
2.10.5. Üriner Antijen Testi.....	17
2.11. Tedavi.....	18
2.12. Klinik Dışı Ortamlardan Örnek Alınması	18
2.12.1. Sıcak Su Tanklarından Su Örneği Alınması.....	18
2.12.2. Lavabo Musluklarından Eküvyon ile Örnek Alınması.....	18
2.12.3. Duş Başlıklarından Eküvyon ile Örnek Alınması	19
2.12.4. Musluk veya Duş Başlıklarından Doğrudan Su Örneği Alınması.....	19
2.12.5. Soğutma Kulesinden Su Örneği Alınması.....	19
2.12.6. Su Örneklerinin Laboratuvara Gönderilmesi.....	19
2.13. Kontrol ve Korunma.....	20
2.14. Su Dağıtım Sisteminin Dezenfeksiyonu.....	21
2.14.1. Fiziksel dezenfeksiyon yöntemleri	21
2.14.2. Kimsayal yöntemler.....	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	23
3.1. Gereç	23
3.1.1. Çalışma Alanı ve Örnekleri	23
3.1.2. Araç ve Gereçler	24
3.1.3. Besiyerler	24
3.1.4. Solüsyonlar	25
3.2. Yöntem	26
3.2.1. Kültür.....	26
3.2.1. Seroloji.....	27

4. BULGULAR.....	29
5.TARTIŞMA	33
6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	38
Kaynakça.....	40
ÖZGEÇMİŞ	53
ARAŞTIRMA İZİNLERİ	54



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2:1 <i>Legionella</i> cinsinde bulunan türler ve serogrup sayıları.....	4
Tablo 3:1 Örnek tipi ve örneğin alındığı yere göre örnek sayısı.....	23
Tablo 4:1 Çalışma örneklerinin <i>Legionella</i> üreme sonuçları.....	28
Tablo 4:2 <i>Legionella</i> üreyen örneklerin örnek tipi ve örneğin alındığı yere göre tür ve serogrup dağılımı	31



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: <i>Legionella</i> 'nın patojenik döngüsü	11
Şekil 2: Örnek toplanan kaynak suyu çeşmesi ve deposu	26
Şekil 3: <i>Legionella pneumophila</i> kolonilerinin BCYE agarda çıplak gözle ve koloni mikroskopuyla görünümü.....	30
Şekil 4: Lateks aglütinasyon testinde <i>Legionella pneumophila</i> serogrup 1 pozitif görünümü.....	31
Şekil 5: UV ışık altında BCYE agarda <i>Legionella</i> sp. kolonisi ve pasaj görünümü	31

SEMBOLLER, KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BCYE	Buffered Charcoal Extract Agar
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DFA	Direk Floresan Antikor
GVPC	Glisin Vankomisin Polimiksin Sikloheksimid
HCl	Hidroklorik Asit
Hsp	Membran Işık Proteini
IFA	İndirekt Floresan Antikor
IFN- γ	İnterferon-Gama
IU	Uluslararası Ünite
KCl	Potasyum Klorür
kDa	Kilodalton
km	Kilometre
mm	Milimetre
MOMP	Major Outer Membrane Protein
p	Yüzdellik Oran
PCR	Polimer Zincir Reaksiyonu
sp	Serogrup
TNF	Tümör Nekroz Faktör
UV	Ultraviyole
μm	Mikrometre

ÖZET

TRABZON İLİ BİNALARININ SU SİSTEMLERİNDE *Legionella* ARAŞTIRILMASI

Amaç: Çalışmamız, Trabzon ilinde bulunan doğal kaynak suyu çeşmesi-deposu, konut, cami ve okul yapılarındaki su sistemlerinin *Legionella* varlığı açısından değerlendirilmesini ve karşılaştırılmasını amaçlamıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada Ağustos-Kasım 2019 tarihleri arasında, Trabzon ili merkez ilçe sınırları içerisinde bulunan, 56 doğal kaynak suyu çeşmesi-deposu, 32 konut duş başlığı, 23 cami şadırvanı, 20 okul deposundan olmak üzere toplam 131 farklı yerden, 131 su ve 84 sürüntü örneği olmak üzere toplam 215 örnek alınmıştır. Sürüntü örnekleri, aynı zamanda su örneği alınan yerlerden alınmıştır. Örnekler BCYE ve GVPC besiyerlerine inoküle edilmiş ve oluşan koloniler lateks aglütinasyon testi ile değerlendirilerek tür ve serotip düzeyinde identifikasyonları gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Örnek alınan yapıların %13.74'ünde *Legionella* tespit edilmiştir. *Legionella*, doğal kaynak suyu çeşmeleri-depolarında %21.43, konut duş başlıklarında %12.50, okul depolarında %5.00 ve cami şadırvanlarında %4.35 olarak belirlenmiştir. Örnek alınan yapılar arasında *Legionella* tespiti açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. *Legionella* su örneklerinde %9.92, sürüntü örneklerinde %7.14 olarak belirlenmiştir. Örnek alım şekli ile *Legionella* tespiti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak doğal kaynak suyu çeşmesi-deposundan alınan 2 sürüntü örneği ve konut duş başlığından alınan 3 sürüntü örneğinde, aynı yerlerden alınan su örneklerinde üreme olmamasına rağmen *Legionella* tespit edilmiştir. *Legionella* tespit edilen yapıların %61.11'inde *L. pneumophila* serogrup 2-15, %27.77'sinde *Legionella* sp. ve %11.11'inde *L. pneumophila* serogrup 1 belirlendi.

Sonuç: Örnek alınan tüm yapılarda *Legionella*'ya rastlanmıştır. Doğal kaynak suyu çeşmesi-deposu en fazla *Legionella* içeren yapı olarak öne çıkmıştır. Su örneklerinde *Legionella* tespit oranı sürüntü örneklerine göre fazla olmakla birlikte; su örneği alınan yerlerden sürüntü örneği de almanın *Legionella* tespit oranını arttırdığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Legionella*, Su, BCYE, GVPC, Serogrup

ABSTRACT
INVESTIGATION OF *Legionella* IN WATER SYSTEMS OF TRABZON
PROVINCIAL BUILDINGS

Objective: Our study aimed to evaluate and compare the water systems in the natural spring water reservoir -store, housing, mosque and school buildings in the province of Trabzon in terms of *Legionella* existence.

Material and Method: In this study, a total of 215 samples were taken including 131 water and 84 swab samples from 131 different place located in the central district of Trabzon between August-November 2019. These were 56 natural spring water reservoirs-stores, 32 residential shower heads, 23 mosque sadirvan, and 20 school depots. Swab samples were taken same time from the same place with water samples. The specimens were inoculated to BCYE and GVPC media and formed colonies were evaluated by latex agglutination test and identified at the species and serotype level.

Results: *Legionella* was detected in 13.74% of the buildings taken the sample. *Legionella* has been determined as 21.43% in natural spring water reservoir-store, 12.50% in residential shower heads, 5.00% in school depots and 4.35% in mosque sadirvans. There was no statistically significant difference in *Legionella* detection among the sampled buildings. *Legionella* was determined as 9.92% in the water samples and 7.14% in the swab samples. No statistically significant difference was found between the sampling method and *Legionella* detection. However, *Legionella* was detected in 2 swab samples taken from the natural spring water reservoirs-stores and 3 swab samples taken from the residential shower heads, although there was no detected in the water samples taken from the same places. It was determined that *Legionella* sp. in 27.77% and *L. pneumophila* serogroup 1 in 11.11%, *L. pneumophila* serogroup 2-15 in 61.11% of the buildings detected *Legionella*.

Conclusion: *Legionella* was detected in all buildings sampled. Natural spring waters reservoir-store stand out as the building containing the most *Legionella*. Although the rate of *Legionella* detection in water samples is higher than that of swab samples; It was determined that taking swab samples from the places where water samples were taken increased *Legionella* detection rate.

Keywords: *Legionella*, Water, BCYE, GVPC, Serogroup

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin Philadelphia eyaletinde, 1976 yılında Amerikan Lejyonerleri için yapılan ve 4400 kişinin katıldığı bir toplantıda, önceden bilinmeyen bir bakterinin neden olduğu pnömoni salgını görülmüştür. 182 kişi hastalanmış ve 29'u ölümlerle sonuçlanmıştır. Yoğun laboratuvar çalışmalarına rağmen salgının nedeni aylarca tespit edilememiştir. Yapılan epidemiyolojik araştırmalar sonucunda, hastalığın büyük olasılıkla hava yolu ile bulaştığı ortaya konulmuştur. Bu salgın tıp tarihindeki en büyük epidemiyolojik çalışmalarından birini başlatmıştır (Fields ve ark. 2002) (Dawid ve ark. 1977) (Diederer 2008).

Legionella bakterisinin doğal yaşam alanı, yüzey suları, toprak, çamur, göller ve akarsulardır. Doğal su ortamlarında az sayıda bulunurlar. Bundan dolayı su dağıtım sistemlerine geçme oranı düşüktür. Ancak insan yapımı su sistemlerinde özellikle soğutma kuleleri, su dağıtım sistemleri, göletler, su depoları, havuzlar gibi sistemlere geçtiklerinde suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliğine bağlı olarak sistemde kolonize oldukları belirlenmiş ve sistemin dışarı açılan musluk, duş başlığı gibi uç noktalarından etrafa yayılan kontamine su damlacıklarının solunması ile insanlara bulaştıkları tespit edilmiştir (Addiss ve ark.1989) (Bollin ve ark. 1985) (Kuchta ve ark. 1983). *Legionella* cinsi bakteriler içerisinde özellikle *L. pneumophila*'nın insanlarda pontiyak ateşi ve lejyoner hastalığı gibi ciddi enfeksiyonlara sebep olduğu bilinmektedir (Best ve ark. 1983).

Çalışmamız, Trabzon ilinde bulunan doğal kaynak suyu deposu-çeşmesi, konut, cami ve okul yapılarındaki su sistemlerinin *Legionella* varlığı açısından değerlendirilmesini ve karşılaştırılmasını amaçlamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

İlk defa ABD'nin Philadelphia eyaletinde 1976 yılı ağustos ayında, 4400 Amerikan lejyonerinin katılımı ile yapılan toplantıda, kaynağı belli olmayan, hızla yayılan bir pnömoni salgını görülmüştür. 182 kişi enfekte olmuş, 29'u ölümlü sonuçlanmıştır (Fields ve ark. 2002) (Dawid ve ark. 1977).

Etkeni bulmak amacı ile 1977 yılında, ABD Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi (CDC) tarafından araştırmalar başlatılmıştır. Hastalık Dr. McDade ve arkadaşları tarafından tespit edilmiştir. Dr. McDade, atipik pnömoni sebebi ile ölen hastalardan alınan örneklerden yeni bir gram negatif basil izole etmiştir. İzole edilen bakteri hiçbir taksonomik gruba uymadığından; yeni bir familya "*Legionellaceae*", yeni bir cins "*Legionella*", yeni bir tür "*pneumophila*" olarak sınıflandırılmıştır (McDade ve ark. 1977) (Brenner ve ark. 1979).

Geriye dönük yapılan çalışmalar ile, benzer pnömoni salgınlarının daha önceleri de meydana geldiği ancak etkenin belirlenemediği anlaşılmıştır. 1974'de aynı otelde yapılan toplantı sırasında, 11 kişide görülen salgının etkeninin *L. pneumophila* olduğu anlaşılmıştır (Terranova ve ark. 1978) (Osterholm ve ark. 1983) (Thacker ve ark. 1978) (Kwaik ve ark. 1998).

Bilinen ilk Lejyoner Hastalığı salgını, 1957 yılında Minnesota'da et paketleme fabrikası çalışanlarında görülmüştür (Osterholm ve ark. 1983).

Washington Psikiyatri Hastanesinde 1965 yılında baş gösteren salgın sonucunda, 81 hastanın 14'ü ölümlü sonuçlanmıştır. Salgından 12 yıl sonra, saklanan serum örnekleri retrospektif olarak araştırıldığında; hastaların %85'inde *L. pneumophila* antikoru saptanmıştır (Thacker ve ark. 1978).

L. pneumophila'nın ilk izolasyonu 1947'de yapılmıştır. Sebebi bilinmeyen, ateşli bir hastanın kanı, kobaya nakledilmiş ve izolasyonu sağlanmıştır. Ancak besiyerlerinde üretilmemesi üzerine, riketsiya benzeri mikroorganizma olarak tanımlanmıştır. 30 yıl sonra yapılan araştırmalar sonucu, bu mikroorganizmanın *L. pneumophila* olduğu anlaşılmıştır (McDade ve ark. 1979).

Legionella bakterisinin kontamine olmuş içilebilir su ile ilişkisinin olduğu ilk kez 1980 yılında rapor edilmiştir (Alary ve Joly 1992).

Çeşitli çalışmalar sonucunda, toplumsal kaynaklı vakaların endüstriyel bölgeler ve yerleşim bölgelerindeki su kaynaklarının kontaminasyonu ile; nozokomiyal *Legionella* vakalarının ise hastane su dağıtım sistemlerinin kontaminasyonu ile irtibatlı olduğu sonucuna varılmıştır (Ruf ve ark. 1988).

2.2. Sınıflandırma

Legionellaceae familyası içinde, yalnızca lejyoner hastalığının nedeni *L.pneumophila* türünün olduğu düşünülüyordu. Fakat daha sonra klinik ve çevresel örneklerden birçok *Legionella* türü izole edilmiştir (Brenner ve ark. 1979). Yeni türler DNA eşleştirme yöntemleri ile tanımlanır ve bu yöntemler bazı türlerin ayırt edilebildiği tek yoldur (Brenner 1986) (Brender ve ark. 1988) (Fry ve ark. 1991). Bu moleküler teknikler arasında DNA hibridizasyonu, Guanin+Sitozin içeriği kullanılarak genomik DNA boyut karşılaştırması, 16s rRNA'nın oligonükleotid kataloglaması ve plazmid analizi bulunmaktadır. Bakteriyel DNA'nın karşılaştırılması ve proteinlerin-peptidlerin antijenik analizinin kullanımı, bazı fenotipik özellikler (gram reaktivitesi, hücre zarı yağ asidi ve ubikinon içeriği, morfolojisi ve spesifik ortamdaki büyüme) cins düzeyindeki bakterileri tanımak için kullanılabilir (EPA, 1985) (Bangsborg 1997) (Frang ve ark. 1990).

Legionella bakterisi genomunu inceleyen bilim adamları, DNA'sının %39'luk kısmının guanin ve sitozinden oluştuğunu ve genom kütleini $2,5 \times 10^9$ dalton olarak bulmuşlardır (Brenner ve ark. 1979). Bu çalışmalar sayesinde *Legionellaceae* familyası, *Legionella* (*L.pnemophila*), *Fluoribacter* (*F.bozemanii*, *F. gormanii*, *F. dumoffii*) ve *Tatlockia* (*T. micdadei*, *T. maceachernii*) olarak üç cins olarak önerilmiştir (Garity ve ark. 1980) (Brenner 1979). Günümüzde kabul gören "*Legionella*" cins adının kullanımınıdır (Harrison ve Saunders, 1994).

Legionella cinsi bakteriler, 60 tür ve 79'den fazla serogruptan oluşur. Bu bakterilerin en az yarısının enfeksiyona neden olduğu ve %85-90'ından *L.pneumophila*'nın sorumlu olduğu bildirilmiştir (Adeleke ve ark. 2001) (Presti ve ark. 2001). *L.pneumophila* 16 serogrup içermektedir. İnsanlarda görülen enfeksiyonların çoğundan *L.pneumophila* serogrup 1, 4 ve 6 sorumludur (Faris ve ark. 2005) (Borella, ve ark. 2005). Fakat yapılan son çalışmalar 2-15 arasında bulunan serogrupların da enfeksiyona neden olabileceğini ortaya koymuştur (Afacan ve ark. 2006). *Legionella*'nın

L.bozemanii, *L.dumoffi*, *L.micdadei*, *L. longbeachae*, *L.feeli* ve diğ er türleri de *L.pneumophila* gibi enfeksiyon yapabilecek özelliktedirler (Borella, ve ark. 2005).

Tablo 2:1 *Legionella* cinsinde bulunan türler ve serogrup sayıları (Edelstein ve Christian, 2015)

Türler	Serogrup sayısı	İnsandan izolasyon	Çevreden izolasyon	UV ışık altında görünüm
<i>Legionella adelaidensis</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella anisa</i>	1	+	+	Parlak Beyaz Mavi / Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella beliardensis</i>	1	-	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella birminghamensis</i>	1	+	-	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella bozemanii</i>	2	+	+	Parlak Beyaz-Mavi
<i>Legionella brunensis</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella busanensis</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella cherrii</i>	1	-	+	Parlak Beyaz-Mavi
<i>Legionella cardica</i>	1	+		Renk Yok
<i>Legionella cincinnatiensis</i>	1	+	-	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella donaldsonii</i>	1	-	+	Bilinmiyor
<i>Legionella dresdenensis</i>	1	-	+	Sarı-Yeşil*
<i>Legionella drancourtii</i>	Bilinmiyor	-	+	Bilinmiyor
<i>Legionella drozanskii</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella erythra</i>	2	-	+	Parlak Mavi-Beyaz
<i>Legionella fairfieldensis</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella fallonii</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella feeleii</i>	2	+	+	Renk Yok
<i>Legionella geestiana</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella genomospecies 1</i>	1	-	+	Bilinmiyor
<i>Legionella gormanii</i>	1	+	+	Parlak Beyaz-Mavi
<i>Legionella gratiana</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella gresilensis</i>	1	-	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella hackeliae</i>	2	+	-	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella impletisoli</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella israelensis</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella jamestowniensis</i>	1	-	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella jeonii</i>	Bilinmiyor	+	-	Bilinmiyor
<i>Legionella jordanis</i>	1	+	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella lansingensis</i>	1	+	-	Renk Yok
<i>Legionella londiniensis</i>	1	+	+	Renk Yok
<i>Legionella longbeachae</i>	2	+	-	Soluk Sarı-Yeşil

<i>Legionella lytica</i>	Bilinmiyor	+	-	Parlak Beyaz-Mavi
<i>Legionella maceachernii</i>	1	+	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella micdadei</i>	1	+	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella massiliensis</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella moravica</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella nagasakiensis</i>	1	+	-	Renk Yok
<i>Legionella nautarum</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella oakridgensis</i>	1	+	-	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella parisiensis</i>	1	+	+	Parlak Beyaz-Mavi
<i>Legionella pneumophila</i>	16	+	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella quateirensis</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella quinlivanii</i>	2	-	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella rowbothamii</i>	1	-	+	Parlak Beyaz-Mavi
<i>Legionella dumofii</i>	1	+	+	Parlak Beyaz-Mavi
<i>Legionella rubrilucens</i>	1	+	+	Parlak Mavi-Beyaz
<i>Legionella sainthelensi</i>	1	+	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella santicrucis</i>	1	-	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella steelei</i>	1	+	+	Yeşil / Parlak Beyaz Mavi
<i>Legionella shakespearei</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella spiritensis</i>	2	-	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella yabuuchiae</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella worsleiensis</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella steigerwaltii</i>	1	-	+	Parlak Beyaz-Mavi
<i>Legionella taurinensis</i>	1	-	+	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella tucsonensis</i>	1	+	-	Parlak Beyaz-Mavi
<i>Legionella tunisiensis</i>	1	-	+	Renk Yok
<i>Legionella wadsworthii</i>	1	+	-	Soluk Sarı-Yeşil
<i>Legionella waltersii</i>	1	-	+	Renk Yok

*Suşların çoğunluğu kırmızı, geri kalanı sarı yeşil

2.3.Morfolojik Özellikler

Legionella türleri; 0,3-0,9 µm eninde, 2-20 µm boyunda, Gram negatif, sporsuz, aerobik, genelde kapsülsüz, hareketli, pleomorfik görünümde basillerdir. Doku ve klinik örnekte bulunan bakteriler, 1-2 µm basil görünümünde; besiyerinde üremiş bakteriler uzun, filamentöz görülebilirler (Yu, 1995). *L.oakridgensis*, *L.nautarum* ve *L.londinensis*

dışındaki bakteriler bir, iki ve daha fazla sayıda kutupsal, kıvrık ve lateral kirpiklerle hareket ederler. Kirpik yapıları ısıya ve besinlere göre farklılık göstermektedir (Rodgers ve ark. 1980).

Elektron mikroskobu ile değerlendirildiğinde, *Legionella* bakterilerinin Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapısına sahip olduğu görülmektedir. *L.pneumophila*'nın hücre duvarında, ince bir peptidoglikan ve lipopolisakkarit tabakasının en önemli yapıları olan diaminopimerik asit ve 2-keto-3 deoksioktonat vardır (Rodgers ve ark. 1980) (Stone ve Kwaik, 1998).

Legionella bakterileri, enerji ihtiyacını krebs siklusu yoluyla katabolize edilen aminoasitler ile; şekerleri ise pentoz siklusu ve Embden-Meyerhof yolundaki glikoneojenik enzimler ile elde eder (Yu, 1995).

Legionella bakterileri, hücresel yağ asitlerinin %80'den fazlasının dallı zincirli olması nedeni ile Gram negatif bakteriler arasında farklıdır. Bu özellikleri *Cornebacterium* cinsi gibi gram pozitif bakterilere ve mikolik asit gibi uzun karbon zinciri içeren *Mycobacterium* cinsine benzerlik göstermektedirler (Tümer ve Er, 1999).

L.pneumophila 24-29 kDa molekül ağırlığında majör dış membran proteinine (MOMP) sahiptir. Peptidoglikan tabaka ile ilişkili olan bu protein, iyon-geçirgen kanallar oluşturan porinlerdir (Gabay ve ark. 1985). *L.pneumophila* serogrup 1'in lipopolisakkarit yapısı bu proteine bağlıdır. Bakteride lipopolisakkarit yapıya karşı oluşan antikorlar immünofloresan yöntem ile saptanabilir (Edelstein ve ark. 1985) (Ciesielski ve ark. 1986).

2.4. Legionella Ekolojisi

Legionella türlerinin ekolojisinin bilinmesi, potansiyel salgınların önlenmesi açısından gereklidir. *Legionella* türlerinin doğal yaşam alanları göller, nehirler, termal sular ve nemli toprak alanlarıdır. Bu bakteriler sıcaklığı 0-63 °C, pH'sı 5.0-8.5 ve çözünmüş oksijen içeriği 0,2-15,0 mg/L arasında değişen geniş bir fiziksel spektrum içerisinde yıllarca canlı kalabilirler (Kuchta ve ark. 1983) (Harrison ve Saunders, 1994) (Verissimo ve ark. 1991).

Legionella türlerinin doğada yaşayıp üreyebilmeleri için yaşadıkları çevrede bazı mikroorganizmaların bulunması gerekmektedir. Çünkü bu bakteriler amipler, mavi yeşil algler ve kirpikli protozoaları enfekte ederek hücre içi paraziti olarak gelişir ve besin

tükendiğinde hücrenin lizise uğramasına neden olur. Dış ortama yayılan bakteriler diğer amipleri enfekte ederek çoğalabilirler. *Legionella*'lar amiplerin içinde çoğalırken dış ortamın olumsuzluklarından korunmuş olurlar. Siyano bakteriler ve diğer *Legionella* dışı bakteriler, *Legionella* bakterilerinin invitro koşullarda üremesini stimüle ederler. Enfeksiyon kaynağı vektörler *Legionella* bakterileri ile birlikte izole edilmiştir (Yu, 1995) (States ve ark. 1987) (Wadowsky ve Yee, 1985) (Barbaree ve ark. 1986).

Legionella türleri, doğal su kaynaklarında az bulunur. Bu sebeple düşük oranlarda su dağıtım sistemlerine geçerler. Fakat bu bakteriler su dağıtım sistemlerine geçebildiklerinde, suyun durgun olduğu alanlarda üreme ortamı bulurlar ve klora yüksek oranda dirençli olduklarından canlılıklarını ve üremelerini sürdürebilirler. Soğutma kuleleri, su dağıtım sistemleri, havuzlar, su depoları gibi fiziksel korunma ve besin sağlayan, uygun su sıcaklığı olan, insan yapımı su sistemlerinde hızlı çoğalırlar (Kuchta ve ark. 1983) (Witherall, ve ark. 1988).

Zorunlu hücre içi parazit olan *Legionella*, suda ve doğal ortamlarında meydana gelen biyofilm tabakası içinde canlılığını koruyarak; protozoonlar ve alglerin vakuollerinde yaşamlarını sürdürür. *Legionella*, biyofilm tabakası içinde bulunan diğer bakterilerle etkileşime girerler. *Aspergillus* türleri, *Aeromonas* türleri, *Pseudomonas vesicularis*, *Vibrio fluvialis*, *Streptococcus viridans* grubu pnömokoklar, *Staphylococcus* ve *Bacillus* türlerinin, *Legionella* bakterilerinin çoğalmalarına engel oldukları bildirilmiştir (Toze ve ark. 1990). *Fischerella*, yeşil algler ve *Cyanobacteriler* ise *Legionella* bakterilerinin çoğalmasını desteklemektedir (Açıkgöz, 1997) (Toze ve ark. 1990).

Legionella bakterilerinin çoğalmasına etki eden diğer bir faktör su sıcaklığıdır. Sıcak su sistemindeki koşullar, genellikle *L.pneumophila* bakterisinin üremesini artırıcı etki yapar. *Legionella* bakterisi özellikle su sisteminin bir parçası olan sıcak su deposunun dip kısmında oluşan sediment içinde çoğaldıkları bildirilmiştir. Dip kısımda sıcaklık sistemin diğer kısımlarına nazaran daha düşüktür. Bakteri yüklü sedimentin dağılması ile içerdiği bakteri, dağıtım sistemine yayılır ve tüm sisteme çok sayıda bakterinin bulaşması mümkün olur (Toze ve ark. 1990). Ayrıca pH değişiklikleri ve ultraviyole ışınları da *L.pneumophila*'nın üremesini etkilemektedir (Katz ve Hammel 1987).

2.5. Enfeksiyon Kaynakları

Legionella türlerinin çoğalmaları ve canlılıklarını devam ettirmelerinde su dağıtım sistemleri birincil öneme sahiptir (Tobin ve ark. 1986). *Legionella*'lar insan yapımı su sistemlerine taşındıklarında yaşam koşullarının doğal ortamlarından daha uygun olması nedeni ile çoğalabilirler (Cramer, 2003). Bu bakteriler insan yapımı su sisteminde insan sağlığı açısından önemli risk oluşturur.

Legionella türlerinin çok bulunduğu ve çoğalabildiği alanlar:

- Soğutma kuleleri ve klima cihazlarının suyu
- Sıcak ve soğuk su sistemleri
- Su tankları, su depoları
- Duş başlıkları ve sıcak su muslukları
- Hastanede bulunan solunum terapi ekipmanları
- Termal banyolar, çamurlar ve kaplıcalar
- Evaporatör ve nebulizörler
- Süs havuzu ve çeşmeler
- Bahçe sulama ve yangın söndürme sistemlerinde kullanılan springler.
- Oda nemlendiriciler

2.6. Bulaş Yolları

Legionella türü bakterilerin insanlara bulaşı, aerosol, aspirasyon veya entübasyon esnasında kontamine olmuş ortamın insanlar tarafından solunması ile oluşmaktadır (Yu, 1993) (Çotuk ve ark. 1998).

Aerosoller ile gerçekleşen bulaşa en önemli örnek, 1968 yılında klima sisteminin *Legionella* ile kontaminasyonuna bağlı olarak Pontiac ateşi salgınının gerçekleşmesidir. Salgının ilk meydana geldiği bölge olan ABD'nin Michigan eyaletinde yer alan Pontiac şehrinden dolayı Pontiac ateşi adını almıştır. Kontamine olmuş klima sistemi ile bağlantılı olarak ortamdaki hava da kontamine olmuştur. Bu ortamda bulunan kişilerde salgın ortaya çıkmıştır. Bu kişilerden alınan örneklerde *L.pneumophila* serogrup 1 tespit edilmiştir (Kaufmann, ve ark. 1981). Aerosoller ile *Legionella*'nın 3.2 km taşınabildiği bildirilmiştir (Addiss ve ark. 1989).

Kontamine olmuş su ile yıkanan solunum sistemi ekipmanları aerosol ile bulaşa yol açabilmektedir. Musluk suyu doldurulan nemlendiriciler ve havalandırma torbası aparatlarında steril su kullanılması gerektiği bildirilmiştir (Woo ve ark. 1986).

Kontamine su ve orofaringeal sekresyonların aspirasyonu da muhtemel *Legionella* bulaşma yollarındandır. Özellikle, baş-boyun kanseri nedeni ile ameliyat olmuş hastalarda, aspirasyona bağlı nozokomiyal lejyoner hastalığı sayısını yükselttiği bildirilmiştir (Johnson ve ark. 1985).

2.7. Antijen Yapısı

Legionella pneumophila'da direkt floresan boyama (DFA) ile tanımlanan 15 serogrup bulunmaktadır (Borella ve ark. 2005). *L. pneumophila*'nın bilinen serogruplarını belirlemek için çoklu antikor reaktifleri gerekir. *Legionella* türlerine özgü antijenler absorbe antiserumlarla aglütinasyon veya IFA ile tanımlanır (Orrison ve ark. 1983) (Edelstein ve ark. 1980) (Gosting ve ark. 1984).

2.8. Virülans ve Patojenite

Legionella pneumophila, fakültatif hücre içi paraziti olarak tanımlanır ve *Legionella* cinsi mikroorganizmalar serbest yaşayan amiplerin bazı türlerinde, silyalı protozoalarda ve biyofilm içinde hayat döngülerini devam ettirirler. *Legionella*, bu özellikleri ile farklı çevre koşullarında hayatta kalabilme yeteneğine sahip olur. İnsan hücrelerinde fibroblast, makrofaj, mononükleer hücreler içinde çoğalabilirler. *Legionella* mikroorganizmalarının büyük kısmı yapay su sistemlerinde kolonize olup yaşamını sürdürebilmesine rağmen, yalnızca birkaç serogrup insanda enfeksiyon yaratma yeteneğine sahiptir (Joly, ve ark. 1986) (Stout ve ark. 1988) (Shawn ve Skerrett, 1994)

Legionella pneumophila, toplumdan kazanılmış diğer pnömoni etkenlerine göre, daha ciddi bir hastalığa neden olmaktadır (Pachon, ve ark. 1990). Bazı *Legionella* türleri ve serotiplerinin insan enfeksiyonlarında daha sık gözlenmesi, henüz açıkça tanımlanamamış olan virülans faktörlerinin varlığını düşündürmektedir (Doumon ve ark. 1988) (Bollin ve ark. 1985).

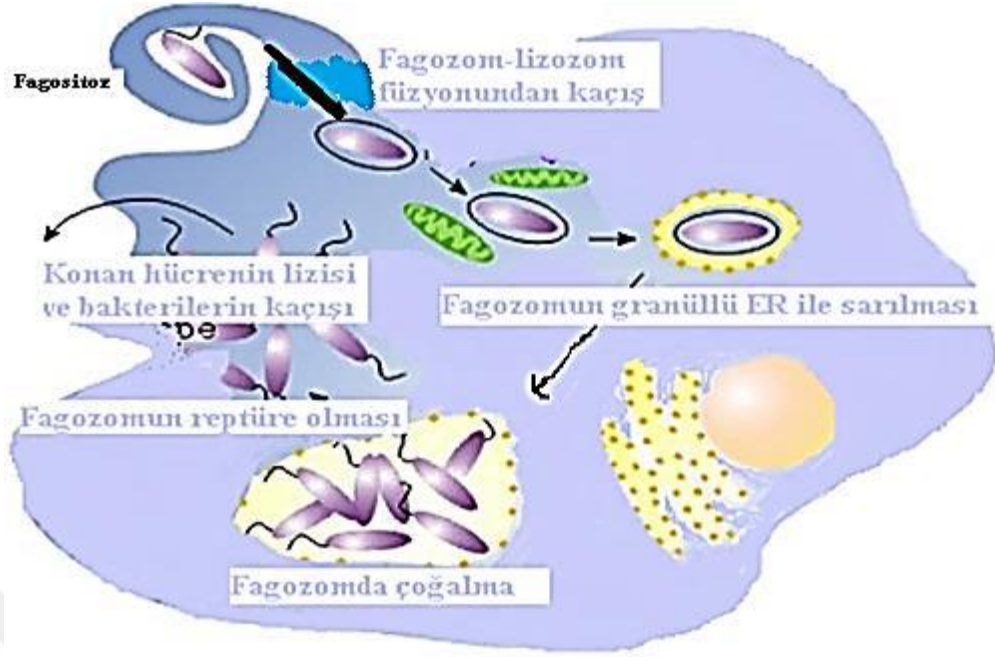
Konak savunmasında primer olarak hücresel bağışıklık, sekonder olarak humoral bağışıklık rol oynar. *L.pneumophila* yalnızca nötrofiller tarafından özgül antikorlar ve

kompleman eşliğinde fagosite edilebilir. Enfeksiyonu izleyen birkaç hafta içinde oluşan antikorların tespiti mümkündür (Vural, 2014).

Lejyoner hastalığına neden olan mikroorganizmalar inhalasyon, aspirasyon ve entübasyon yolu ile insanlara bulaşabilirler. *Legionella* türlerinin insan enfeksiyonlarındaki patojenitesi konak hücreleri enfekte edebilme yeteneğine bağlıdır. Solunum yolu ile alınan mikroorganizmanın, solunum yolu üzerindeki silyaların ve mukusun sayesinde akciğerlere ulaşması engellenebilmektedir. Fakat sigara, alkol kullanımı, ileri yaş ve kronik akciğer hastalığı olanlarda silya yapısının bozulması nedeniyle mikroorganizmaların epitel hücrelere yapıştıkları ve daha sonra bu hücrelerde kolonize oldukları tespit edilmiştir. Alveollere ulaşan bakteriler akciğerde bulunan alveoler makrofajlarla karşılaşır ve makrofajlar tarafından fagosite edilirler. *Legionella* bakterilerinin fagositozunda iki yol izlenmektedir. Bunlardan biri konvansiyonel fagositoz diğeri *L.pneumophila*'ya özgü bir yol olan kıvrılma "coiling" fagositozudur.

Konvansiyonel fagositozda *Legionella*, sahip olduğu lipopolisakkarit tabakası aracılığı ile komplemanı hem klasik hem de alternatif yoldan aktive edebilmektedir. Fakat kompleman alternatif yoldan aktive edilirken komplemanın C3b komponentinin bakteri yüzeyinde bağlanmayı tercih ettiği bölge LPS değil de ompS geni tarafından kodlanan ve MOMP (majör outer membran protein) olarak tanımlanan başlıca dış membran porin proteindir. Bu şekilde bakterinin yüzeyine bağlanan C3b, makrofajların yüzeyinde bulunan kendisine özgü CR1 ve CR3 reseptörlerine bağlanarak fagositozun gerçekleşmesini ve bakterinin hücre içine alınmasını sağlar (Bellinger ve Horwitz, 1990) (Horwitz ve Silverstein, 1980) (Nash ve ark. 1984) (Horwitz, 1984).

Legionella, in vitro olarak oksijenin mikrobisidal etkisine duyarlı olmasına rağmen polimorfonükleer lökositler tarafından sindirilemez. Bu hücreler yalnız özgül antikor veya kompleman ile opsonize olan bakteriyi in vitro olarak fagosite eder. Bakteriye özgü antikorlar bakterinin çoğalmasını engelleyemez ancak polimorfonükleer lökosit, monosit, alveoller makrofajlar tarafından fagositozda opsonizasyon görevi görürler. Mononükleer hücreler, *Legionella* antijenlerine karşı hem poliferasyon hem de IFN- γ (interferon gama), IL-1 (interlokin), TNF (Tümör Nekroz Faktör) gibi monositleri aktive eden sitokinler üreterek cevap verir. IFN- γ tarafından aktive edilen makrofaj ve monositler, bakteri için gerekli olan demiri sınırlayarak, *Legionella*'ların intraselüler çoğalmasını inhibe eder (Vural, 2014) (Nagai ve ark. 2002) (Segal ve ark. 1998) (Berger ve Isberg, 1993) (Edelstein ve ark. 1999).



Şekil 1: *Legionella*'nın patojenik döngüsü (Microbe Wiki, 2019)

Coiling fagositoz ise bir opsonin olmadan gerçekleşen, bakteriye ait özelliklerden kaynaklanan farklı bir fagositozdur. Bu olayda makrofaj tarafından oluşturulan ince, uzun bir pseudopod kıvrılarak, bakterinin çevresini sarar ve bakteriyi bir vakuolun içine alır (Horwitz, 1984). *Legionella*, fagositoz ile makrofajlar içinde fagozoma yerleşerek, sırasıyla konak hücrenin endoplazmik retikulumu, mitokondri ve ribozomunu kullanmaya başlar ancak bakteriler süperoksit dismutaz ürettikleri için lizozom süperoksitinin öldürücü etkisini azaltır ve lizozomla füzyona uğramaz (Horwitz ve Silverstein, 1980) (Horwitz, 1983). Yüzeyi ribozomla çevrili olan fagozomun içinde bakteri yaklaşık iki saatlik çoğalma dönemi geçirir. Çoğalma fazı adını alan bu fazda bakteriler hareketsiz, uzun ve filamentli yapıdadırlar. Makrofajlar içerisinde çoğalan *Legionella*'ların bulunduğu fagozomun, bakterinin geç üreme fazına girmesi ile daha önce birleşmediği lizozomla birleştiği görülür. Bu fazda bakteriler hareketli ve kısa çomaklar halindedir. Virülans özellik kazanan bakteri konak hücrenin ölümü ile serbest kalır ve yeni bir konağa geçerek enfeksiyon riski oluşturmaya devam eder. Bakteriden zarar gören konak hücrenin ölümü ya apoptoz yada por oluşumunun aracılık ettiği nekroz veya her iki mekanizma ile birlikte gerçekleşir (Gao ve Kwaik, 1999) (Alli ve ark. 2000). Şekil 1'de *Legionella*'nın patojenik döngüsü görülmektedir (<https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Legionella>).

2.9. Klinik Hastalıklar

Legionella enfeksiyonları genellikle asemptomatiktir. Semptomatik enfeksiyonların öncelikle etkilediği organ akciğerdir.

Legionella'ların oluşturduğu hastalıklar 4 grupta toplanırlar (Alim, 2004).

- Lejyoner hastalığı (Lejyoner pnömonisi)
- Pontiac ateşi (Nonpnömotik Legionellosis)
- Subklinik enfeksiyon (Asemptomatik serokonversiyon)
- Akciğer dışı enflamatuvar hastalık (Ekstrapulmoner Legionellosis)

2.9.1. Lejyoner Hastalığı

Lejyoner hastalığının başlıca klinik tablosu pnömonidir. Lejyoner hastalığı *Legionella* enfeksiyonları içinde sıklıkla karşılaşılan ciddi klinik vakalardır. *L. pneumophila* serogrup 1, lejyoner hastalığının en yaygın nedenidir. *L. longbeachae*, *L. bozemanii*, *L. dumorfii* ve *L. micdadei* pnömoniye en sık neden olan diğer *Legionella* türleridir (Arora ve ark. 2012). İnkübasyon süresi 2-10 gündür. Hastalık çok ağır seyreden pnömoniden, çok hafif öksürük ve ateşe kadar değişen şekillerde görülebilir. Ciddi pnömonilerde hastalık hemen tedavi edilmezse ölüme neden olabilir ancak erken başlanılan tedavi sonrasında hastaların %95-99'unda tamamen iyileşme gerçekleşir (Sopena ve ark. 1998).

Lejyoner hastalığının ilk haftalarında ateş, halsizlik, iştahsızlık ve kas ağrısı gibi belirtiler görülür. Ateş hastaların %20'sinde görülür ve 40 °C'nin üzerinde seyredir. Öksürük ilk haftalarda hafiftir. Hastaların %25-45'sinde sulu diare, %10-20'sinde bulantı kusma ve karın ağrısı görülebilir. Mental durum bozukluğu da en sık gözlenen nörolojik bozukluktur. Akciğer grafisi bulgusuna göre lejyoner hastalığı teşhisi koymak oldukça zordur. Ancak tanı konamamış pnömoni vakalarında lejyoner hastalığı olasılığını artıran bazı durumlar vardır. Solunum yolu örneklerinin Gram boyamasında çok sayıda nötrofil bulunmasına karşın az sayıda yada hiç mikroorganizma görülememesi, hiponatremi (serum Na⁺ düzeyi 130 mEq/l altında) olması, beta laktam (penisilin veya sefalosporin) ve aminoglikozid antibiyotiklere yanıtta yetersizlik, normal dışı karaciğer fonksiyonu ve hematüri diğer pnömonilerden ayırt etmekte yardımcıdır. (Yu, 1995) (Fang ve ark. 1990) (Yu ve ark. 1982) (Hayden ve ark. 2001).

Klinik tablosu pnömoni olan lejyoner hastalığı, immün sistemin baskılandığı durumlarda, karaciğer hastalığı olanlarda, cerrahi uygulamalarda, transplantasyon yapılan hastalarda, kanserli hastalarda, diyabetlilerde, alkol ve sigara kullananlarda daha sık görülür (Lim, ve ark. 2001).

Lejyoner hastalığının insidansı, su rezervuarlarının mikroorganizma ile kontaminasyon derecesine, su ile temas eden kişinin duyarlılığına ve etkenin vücuda giriş konsantrasyonuna bağlıdır. Laboratuvar tanı yöntemlerinin yetersiz olmasından dolayı, *Legionella* enfeksiyonlarının bilinenden çok daha fazla olabileceği belirtilmiştir. Yapılan çalışmalar toplumsal kaynaklı pnömonilerde *Legionella* türlerinin *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae*'dan sonra en sık rastlanan üçüncü etken olduğunu göstermektedir (Winn ve ark. 2006).

2.9.2. Pontiac Ateşi

Legionella pneumophila, ilk defa Michigan Pontiac Halk Sağlığı Bölümü çalışanlarında, en az 144 kişiyi etkileyen akut ateşli miyalji salgınının eden olmuştur. Merkez çalışanlarının % 95'i bu salgından etkilenmiştir. Epidemiyolojik araştırmalar salgının muhtemel kaynağı ve yayılma şekli olarak havalandırma sistemlerini kusurlu bulmuştur. Bu salgının dikkat çeken yönü olağanüstü yayılma oranı, bir bina ile ilişkili ortak bir kaynak, havadaki yayılma, hastalar arasında kesin ikincil vakaların bulunmaması ve yoğun çevre ve laboratuvar araştırmalarına rağmen kaynağın belirsizliği olarak öne çıkmıştır (Glick ve ark. 1978). Bu salgında ortaya çıkan klinik tablo Pontiac ateşi olarak adlandırılmıştır.

Pontiac ateşi 6-12 saatlik inkübasyon süresi sonunda gelişir. Hastalık belirtileri ateş, üşüme, titreme, kas ağrıları, halsizlik ve baş ağrısıdır. Ayrıca baş dönmesi, fotofobi, ense sertliği ve konvülsiyon da görülebilir. Solunum yolu bulguları azdır. Hastalık kendiliğinden iyileşir. Genelde hastaneye yatış gerekmez. Antibiyotik tedavisi gerekmez. Bu hastalıktan dolayı ölüm bildirilmemiştir (Glick ve ark. 1978) (Edelstein, 2008).

2.9.3. Subklinik Enfeksiyon

Pnömoni tablosu ortaya çıkmadan, sadece hasta serumunda *L.pneumophila* antikorlarının tespit edilmesiyle ortaya çıkan klinik durumdur (Alim, 2004).

2.9.4. Akciğer Dışı Enflamatuvar Hastalık

Ağır *Legionella* pnömonilerinde bakterilerin kanla vücuda yayılması sonucunda plevral ampiyem, perikardit, miyokardit, endokardit, pankreatit, piyelonefrit, peritonit, sinüzit, abse gibi hastalık tabloları gelişir (Alim, 2004).

2.10. Laboratuvar Tanısı

Lejyoner hastalığının klinik ve radyolojik bulguları spesifik olmadığından tanı için laboratuvar testlerine ihtiyaç duyulur. *Legionella* tanısında kullanılan yöntemler direk boyama, kültür, seroloji, idrarda antijen testi ve PCR'dur.

2.10.1. Direk Boyama

Klinik örneklerin Gram, Giemsa ve Gümüşleme ile boyanması tanıda kullanılan hızlı yöntemlerdendir (Greer ve ark. 1980). Klinik örneklerdeki mikroorganizma standart Gram boyama yöntemi ile iyi boyanmadığı için zıt boya olan safranin ile boyama süresi uzun tutulmaktadır. Giemsa boyası, Gram boyama yöntemine göre bakteriyi daha etkin boyamaktadır. Parafin tesbitli dokulardaki bakterilerin görülebilmesi için, Warthin-Starry ve Dieterle gibi gümüş boyama yöntemleri kullanılır (Greer ve ark. 1980) (Pounder, 1983).

2.10.2. Kültür

Legionella türleri ile oluşan enfeksiyonların tanısı için doğrulayıcı yöntem, örneklerden mikroorganizmaların izolasyonudur (Yu, 1995).

L. pneumophila ilk kez gine domuzları ve embriyonlu tavuk yumurtası kullanılarak izole edilmiştir (Brenner 1979). Bu mikroorganizmanın laboratuvar ortamında

üretmesini sağlamak amacıyla, *L. pneumophila* ile enfekte olmuş yumurta sarısı süspansiyonu 17 farklı agara ekim yapılmış ve %1 hemoglobin ve %1 IsoVitalX (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, Md.) eklenen Muller-Hilton agar, *Legionella* üremesini destekleyen tek besiyeri olmuştur. Yapılan çalışmalar, L-sistein hidroklorür ve çözünür ferrik pirofosfatın sırasıyla IsoVitalX ve hemoglobinin yerine geçebileceğini ve *L. pneumophila* bakterilerinin çoğalabilmesi için en uygun koşulların %2,5 CO₂, 35°C'de ve pH:6.9 olduğunu belirlemiştir (Feeley ve ark. 1978).

Legionella standart besiyerlerde üremediği için özel besiyerlere ihtiyaç duyulur. Bu nedenle çeşitli antibiyotikler kullanılarak seçici özellik kazanan BCYE- α (Buffered Charcoal Yeast Extract- α ketoglutarate) besiyeri kullanılır (Edelstein, 1982). Kontaminasyonu engellemek ve *Legionella* dışındaki olası mikroorganizmaları ve mantarları öldürmek için genel üretici BCYE besiyerine sikloheksimid, polimiksin B ve vankomisin antibiyotikleri eklenerek GVPC (Glisin Vankomisin Polimiksin Sikloheksimid) besiyeri elde edilir (Feeley ve ark., 1979) (Pasculle, 1980).

BCYE agar, günümüzde de *Legionella* kültürü amacıyla ISO 11731 standardı kapsamında kullanılan besiyerdir (THSK, 2014). *Legionella* bakterileri BCYE agardaki kültürde, 35-37°C'de, >%85 nemli ortamda ve %5 CO₂'li ortamda 5-10 gün içinde üretilmektedir. Besiyeri içinde bulunan maya özütü bakteri için besin kaynağıdır. L-sistein, demir bileşikleri ve α -ketoglutarat *Legionella* üremesini uyarır. Aktif kömür ise besiyerinin ışık teması sonucu oluşabilecek süperoksit radikalleri ve peroksit bileşiklerinin nötralize edilmesinde görev alır. Bazı bakteriyolojik ortamlara aktif kömür eklenmesi, birçok bakteriyel patojenin izolasyonunu ve büyümesini büyük ölçüde artırır (Feeley ve ark. 1979) (Bey ve Johnson, 1978). Seçicilik için polimiksin B, anisomisin ve sefamandol veya vankomisin besiyerine eklenir. Örneklerin ekimden önce pH 2,2 asit (HCl-KCl) çözeltisi ile 3-5 dk yıkanıp, 55-60 °C'lik su banyosunda 1-2 dk. tutulması ile gerçekleştirilen dekontaminasyon işlemi izolasyonu kolaylaştırır (Hoffman ve ark. 1983). (Reller ve ark. 2003)

Kanlı agar *Legionella* dışındaki bakterilerin üremesi için kullanılan besiyeridir. Bu besiyerinde L-sistein olmadığından *Legionella* üremez. BCYE agarda üreyen koloniler ile kanlı agarda üreyen koloniler karşılaştırılarak *Legionella* şüpheli kolonilerin belirlenmesinde kullanılır (Pınarbaşı, 2011).

Kültür tanıda altın standarttır (Murder ve Yu, 2002). Özel ortamlar, örneklerin uygun şekilde işlenmesi ve teknik uzmanlık gerektirir. %100 özgüllüğü ile en güvenilir

yöntemdir ancak *Legionella* türlerinin kolay ürememeleri duyarlılığını azaltmaktadır. Balgam, BAL, biyopsi materyali, boğaz sürüntüsü ve kan gibi örneklerin yanında, kaynak araştırmasında çevresel örneklerde de kullanılır. Örnekler uygun besiyerine hemen ekim yapılırsa taşıma besiyeri, tampon, fizyolojik tuzlu su kullanılmadan 30 dk içerisinde laboratuvara ulaştırılmalı, aksi takdirde 4 °C’de saklanmalıdır (Stout ve ark.2003).

Amerikan Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi (CDC), *Legionella* analizi için musluk ve duş başlıklarından örnek alınmasını, *Legionella* dışı mikroorganizmaların uzaklaştırılması için pH 2.2 asit solüsyonu ile 15 dk yıkama sonrasında ekim yapılmasını, bakteri yoğunluğunun az olduğu sular göz önüne alınarak filtrasyon yöntemi ile yoğunlaştırma yapılmasını önermektedir (Prevention, 2011).

Legionella enfeksiyonu geçiren hastalara rastlanıldığında, enfeksiyonun kaynağını belirlemek için yaşadığı çevreden örnek toplanmalıdır. Su depolarından ve sıcak su tanklarından sediment ve duşlardan sürüntü örnekleri alınır. Su örnekleri doğrudan ekim yerine santrifüj edilerek yada filtrasyon yöntemi ile yoğunlaştırılarak ekim yapılmalıdır (Edelstein, 1982).

İnkübasyona bırakılan *Legionella* kültürleri, 3-4. günden sonra çıplak gözle incelendiğinde yüzeyleri düzgün, hafif bombeli, gri-beyaz, 1-3 mm çaplı; mikroskop altında ise kenarları pembe, mor, yeşil veya buzlu cam görünümlü koloniler hedef koloni olarak değerlendirilir (THSK, 2014). Bazı *Legionella* türleri gün ışığı altında farklı renklerde görülebilir. *Legionella*’nın sisteme ihtiyaç duyması diğer bakterilerden ayrımında kolaylık sağlamaktadır. %5 Koyun Kanlı Agara ekim yapıldığında birçok bakteri türünün aksine *Legionella* türleri bu besiyerde ürememektedir. Şüpheli kolonilerden BCYE ve Kanlı Agar besiyerlerine pasaj yapılır. BCYE’de üreyip kanlı agarda üremeyen koloniler olası *Legionella* olarak değerlendirilir ve serogrupsama yapılmak için işleme alınır. Wood lambası (UV: Dalga boyu 364 nm) ışığı altında kolonilerinin floresan vermesiyle de *Legionella* türleri tanımlanabilir (Winn , 2006).

2.10.3. Serolojik Yöntemler

Serolojik yöntemler geriye dönük tanıya yardımcı oldukları için genellikle epidemiyolojik araştırmalarda uygulanmaktadır. Bu amaçla hasta serumunda antikor düzeyini araştırmak için mikroaglutinasyon ve enzim immünassay (EIA) gibi teknikler

geliştirilmiştir. Fakat en sık kullanılan yöntem İmmün Floresan Assay (IFA)'dir (Reller ve ark. 2003).

İmmün Floresan Assay (IFA), *Legionella*'ya özgü IgM, IgG ve IgA sınıfı antikorların tespitinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Broome ve ark. 1979) (Edelstein ve ark. 1985). %25-70 duyarlılığa, %99 özgüllüğe sahiptir. Çoğu durumda, 3-4 hafta içinde antikor titresinde 4 kat artış tespit edilir, ancak bazı durumlarda bu 10 hafta sürebilir (Edelstein ve ark. 1985) (Thomason ve ark. 1979).

Direkt Floresan Antikor (DFA), solunum sistemi salgılarında antijen aramaya yönelik yöntemdir. Bu yöntem de türe ve serogruba özgül dış membran proteinlerine karşı elde edilmiş monoklonal floresan antikor kullanılır. Hızlı sonuç vermesine karşın, DFA yönteminin duyarlılığı, kültür yönteminin duyarlılığından düşüktür. Balgam örneklerinde %50, BAL, akciğer dokusu ve biyopsi örneklerinde %70 özgüllüğe sahiptir (Plouffe ve ark. 1995).

2.10.4 Polimer Zincir Reaksiyonu (PCR)

Enfeksiyon kaynağının saptanmasında ve doğrulanmasında moleküler fingerprinting, elektroforetik alloenzim tipleme, ribotipleme, DNA'nın pulse field jel elektroforezi, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve monoklonal antikor panelleri kullanılmaktadır (Gaia ve ark. 2005).

Legionella tespitinde, DNA hidridizasyon testleri ve genellikle kontamine sularda *Legionella* aranmasında PCR kullanılmaktadır. DNA bölgesi olarak sıklıkla *Legionella* türlerine özgü 5S rRNA geni veya Mip (macrophage infectivity potentiator) geni kullanılmaktadır (Lisby ve Dessau 1994).

2.10.5 Üriner Antijen Testi

Legionella antijenleri idrarda çözünmemiş halde bulunduğu için, klinik semptomların başlangıcından yaklaşık üç gün sonra, hastanın idrarında *L. pneumophila* serogrup 1'e ait antijenler saptanabilir. Yöntemin duyarlılığı %80, özgüllüğü % 100'dür (Yu 1995).

2.11. Tedavi

Lejyoner hastalığının tedavisinde kullanılan en etkili ilaç eritromisindir. Ancak ağır seyreden hastalarda ek olarak rifampin de kullanılmaktadır. Fakat eritromisin gastrointestinal ve yüksek dozda ototoksik yan etkileri nedeni ile hekimler tarafından tercih edilmemektedir. Son yıllarda yapılan tedavi uygulamalarında azitromisin ile klaritromisin gibi geniş spektrumlu makrolidler ve siprofloksasin, perfloksasin gibi kinolonlar kullanılmaktadır. Makrolidler, kinolonlar, rifampin, trimetoprim-sulfametoksazol ve tetrasiklinlerin *Legionella* türlerinin tedavisinde olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Penisilin doğal direnç nedeni ile etkili değildir (Akalin, 1993). Tedaviye ilk cevap 2-5 gün içinde başlar. Toplam tedavi süresi 10-14 gündür, bağışıklığı baskılanmış kişilerde 21 güne kadar uzayabilmektedir (Mülazimoğlu, 2002).

2.12. Klinik Dışı Ortamlardan Örnek Alınması

2.12.1. Sıcak Su Tanklarından Su Örneği Alınması

Su tahliye musluğu açıldıktan hemen sonra ilk 100 ml su örneği alınır. Daha sonra su, 45 sn-1 dk kadar tazyikli olarak akmaya bırakılır ve aynı musluktan ikinci 100 ml su örneği alınır. Doğru etiketlendirme yapılarak, en kısa sürede çalışılmak üzere laboratuvara gönderilir (THSK, 2014).

2.12.2. Lavabo Musluklarından Eküvyon ile Örnek Alınması

Musluk hafifçe açılarak birkaç damla su akıtılır ve musluk ağzının ıslanması sağlanır. Steril bir çift eküvyonun pamuklu ucu musluk ağzından içeri olabildiğince sokulur. Eküvyonun tüm yüzeyi musluk ağzında hafifçe kuvvet uygulayarak çevrilir. Musluk hafifçe açılarak 1-2 ml su steril burgu kapaklı tüp içine akıtılır ve eküvyonlar bu tüpün içine daldırılır ve tüpün kapağı kapatılır (THSK, 2014).

2.12.3. Duş Başlıklarından Eküvyon ile Örnek Alınması

Duş başlığı hafifçe açılarak duş başlığından birkaç damla su akıtılır ve duş başlığının ıslanması sağlanır. Bir çift eküvyon duş başlığının tüm yüzeyine, hafif bir kuvvet uygulanarak ve çevrilerek sürtülür. Musluk yine hafifçe açılarak duş başlığından akıtılan 1-2 ml su burgu kapaklı tüp içine konur ve eküvyonlar bu tüpün içine daldırılarak kapağı kapatılır (THSK, 2014).

2.12.4. Musluk veya Duş Başlıklarından Doğrudan Su Örneği Alınması

Musluk veya duş başlıklarından örnek alımının eküvyon sürtme yöntemi ile yapılması önerilir. Eküvyon bulunmaması durumunda ise musluk veya duş başlıklarından örnek alımı, suyun doğrudan şişeye doldurulması ile yapılır. Musluk ve duş başlığından su örneği alınması için musluk hafifçe açılmalı ve beklenmeden 100 ml su örneği şişeye doldurulmalıdır (THSK, 2014).

2.12.5. Soğutma Kulesinden Su Örneği Alınması

Soğutma kulesinden su örneği alınması için, bina teknik servis elemanlarından yardım alınması gerekmektedir. Örnek, soğutma kulesi içine su şişesinin daldırılması ile alınır. 100 ml su yeterlidir. Birden fazla soğutma kulesi bulunan binalarda, her birinden ayrı ayrı örnek alınması gerekmektedir. Etiketlemeye dikkat edilmeli ve örnekler laboratuvara en kısa sürede ulaştırılmalıdır (THSK, 2014).

2.12.6. Su Örneklerinin Laboratuvara Gönderilmesi

Örneklerin laboratuvara gönderilmesinde, ilk 24-48 için soğuk zincir gerekli değildir. Ancak örnekler mümkün olan en kısa sürede laboratuvara gönderilmeli; laboratuvar hemen işlem yapmayacaksa bir haftaya kadar buzdolabında +4 °C saklanmalıdır (THSK, 2014).

2.13. Kontrol ve Korunma

Legionella, doğal yaşam alanlarının dışında insan yapımı su sistemlerine girdiğinde ve uygun şartlar mevcut olduğunda su sistemlerinde kolonize olur. Özellikle kalabalık yaşanan otel, hastane, okul, yurt gibi yerlerde salgınlara neden olabilmektedir (Addiss ve ark. 1989) (Bollin ve ark. 1985). Bina su sistemlerinin eski olması, su sıcaklığının yüksek olması kolonizasyonu kolaylaştırır.

Lejyoner hastalığı tanısı konmuş kişinin yaşam alanlarının araştırılması gerekir. Hastanın konakladığı binaya giren şebeke suyu deposundan, su tanklarından, klima soğutma kulesi ve klima sistemi içinde dolaşan sudan, binanın tüm katlarının en az birer odasının duş başlıklarından, su musluklarından ve termal havuzlardan su örnekleri alınmalıdır. Şüpheli bina hastane binası ise örnekler yalnızca katları temsilen değil, yoğun bakım ve ameliyathanelerden ve kliniklerde yatan hastaların solunum ekipmanlarının su haznelerinden de alınmalıdır.

Rutin kontrol önlemlerinin temelini tesisat mühendisliği ve iyi teknik bakım oluşturur. Sıcak ve soğuk su tankları mutlaka uygun tahliye musluklarına sahip olmalıdır. Bu şekilde, belli aralıklarla tankların tamamen boşaltılması, temizlenmesi ve dip sedimentinin uzaklaştırılması mümkün olur. Soğuk su tankları en az 6 ayda bir, sıcak su tankları ise en az yılda dört kez boşaltılıp temizlenmeli ve dezenfekte edilmelidir. Eğer bir sıcak su tankı veya sıcak su sisteminin bir kısmı bir hafta veya daha uzun bir süre ile bakım ve benzeri nedenlerle devre dışı kaldıysa, yeniden kullanıma sokulduğu andan itibaren suyun sıcaklığı en az bir gün süre ile 70°C'nin üzerinde tutulmalıdır. Sıcak su tanklarında bulunan suyun sıcaklığı yıl boyunca en az 60°C düzeyinde tutulmalıdır. Sıcak su tanklarına geri dönen su en az 50°C olmalıdır. Binanın her noktasında musluk veya duş başlıklarından akıtılan sıcak suyun sıcaklığı 1 dk içinde 50-60°C arasında bir sıcaklığa ulaşabilmelidir. Su dağıtım sisteminde su akımının olmadığı ya da çok yavaş olduğu yerler belirlenip bütün ölü boşluklar hemen yok edilmeli, kullanılmayan dallanmalar kaldırılmalıdır. Duş başlıkları ve musluk filtreleri kireç tabakası gelişmesine neden olur. Bunların kullanımından kaçınılmalı ya da düzenli aralıklarla kireç çözücülerle temizlenmelidir. Eğer kullanılmıyorsa, soğutma kuleleri boşaltılmalı ve temizlenmelidir. Kullanımda olan soğutma kuleleri yılda en az 2 kez mekanik olarak temizlenmeli, tortu ve sediment tamamen uzaklaştırılmalı, organizmaların üremesini engellemek için uygun biyosidler düzenli olarak kullanılmalıdır (THSK, 2016).

2.14. Su Dağıtım Sisteminin Dezenfeksiyonu

Dezenfeksiyon işlemi, membran filtrasyon, termal yöntem ve ultraviyole ışınları olmak üzere üç farklı fiziksel yöntem ve serbest klorlama, bakır-gümüş izolasyonu ve monokloramin olmak üzere üç farklı kimyasal yöntem ile yapılabilmektedir.

2.14.1. Fiziksel dezenfeksiyon yöntemleri

2.14.1.1. Membran filtrasyon

Yapay su sistemlerindeki suyun kullanılmadan önce 0,2 µm por çapındaki filtrelerden süzülmesi, nozokominal *Legionella* bulaşının önlenmesinde etkili bir yöntemdir (Vonberg ve ark. 2005).

2.14.1.2. Termal yöntem

Yapay su sistemlerinde bulunan musluklar ve duş başlıklarından 60 °C'den yüksek sıcaklıktaki suyun 30 dk süresince akıtılması ile gerçekleştirilmektedir. Etkili bir bakteriyel arındırma işlemi olmasına rağmen bakterilerin yeniden çoğalabilmesi riski nedeniyle kalıcı çözüm getirmemektedir (Kim ve ark. 2002).

2.14.1.3. Ultraviyole ışınları

UV ışınları, bakteri DNA'sını kırarak timin dimerleri oluşmasına neden olarak bakteriyi öldürür. Özellikle atık su tesislerinde kullanılsa da; ultra saf su sistemlerindeki suyun dezenfeksiyonu için de kullanılmaktadır. Etkinliğinin kısa süreli olması ve biyofilm üzerine etkili olmaması nedeniyle tek başına tercih edilen bir yöntem değildir. Hiperklorlama ve ısıl şok uygulamaları ile birlikte kullanıldığında etkinliği artmaktadır (Kim ve ark. 2002).

2.14.2. Kimsayal yöntemler

2.14.2.1. Serbest klorlama

İçme suyu sistemlerindeki serbest klorlama (<0,5 mg/L), biyofilm nedeniyle *Legionella*'ya biyosidal etki göstermemektedir. *Legionella*, klora karşı yüksek dirence sahiptir. Okside edici olarak kullanılan klorun konsantrasyonunun artırılmasıyla, *Legionella* çoğalması engellenebilmektedir. CDC'nin önerisine göre serbest klor konsantrasyonu en az 1 mg/L olmalıdır (Kim ve ark. 2002) (Kool JL, 2002).

2.14.2.2. Bakır-Gümüş izolasyonu

Bakır-gümüş izolasyon 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 hücre hasar görür. Protein denatürasyonu ve lizis gözlenir. Bakır-gümüş iyonizasyonu sistemlerde kalıntı bıraktığı için yeniden kolonizasyon gerçekleşmez (Stout ve Yu 2003).

2.14.2.3. Monoklamin

İçme suyu dezenfeksiyonunda 1916'dan bu yana kullanılan bir yöntemdir. Monokloramin, amonyak ve serbest klorun suda doğru oranda karıştırılması ile oluşturulmuştur. Biyofilm tabakasına serbest klor dezenfeksiyon uygulamasından daha iyi penetre olmaktadır. 4 ppm monokloramin *Legionella*'nın yok edilmesinde oldukça etkili olduğu çalışmalar sonucu ortaya konulmuştur (Kim ve ark. 2002) (Kool JL, 2002).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışma Alanı ve Örnekleri

Bu tez çalışması 01 Eylül-01 Ekim 2019 tarihleri arasında, Trabzon ili Ortahisar ilçesi (merkez ilçe) sınırları içerisinde bulunan okul depoları, cami şadırvanları, doğal kaynak suyu çeşmeleri-depoları ve konut duş başlıklarından alınan su örnekleri ve sürüntü örnekleri ile gerçekleştirilmiştir. 20 okul deposundan, 23 cami şadırvanından, 56 doğal kaynak suyu çeşmesi-deposundan ve 32 konut duş başlığı olmak üzere toplam 131 farklı yerden su ve sürüntü örneği alındı.

Konutlardan alınan örnekler, her apartmanda bir dairenin duş başlığından olacak şekilde alındı. Sürüntü örnekleri, duş başlığından çok az su akıtıldıktan (nemlendirmeyi sağlayacak miktarda) sonra, duş başlıklarının iç yüzeylerinden steril eküvyon yardımıyla alındı ve bu eküvyon nemini kaybetmemesi için içerisinde aynı noktadan alınmış 2 ml sıcak su bulunan steril plastik santrifüj tüplerine konuldu. Su örnekleri ise duş başlığından 30 sn süreyle su akıtıldıktan sonra 500 ml sıcak su örneği içerecek şekilde steril plastik kaplara alındı. Okul deposunun tahliye musluğundan, cami şadırvanı musluğundan ve doğal kaynak suyu çeşmesi musluğundan ve doğal kaynak suyu deposu su tahliye kısımlarından da aynı prensiplerle sürüntü örneği ve atmosfer sıcaklığında 500 ml su alındı. Örnek alımlarında önce sürüntü örneği sonra su örneği sıralamasına uyuldu. Su ve sürüntü örnekleri güneş ışığına maruz kalmamasına özen gösterilerek, en kısa zamanda laboratuvara ulaştırıldı. Sürüntü örnekleri, su örneği alınan yerlerden aynı zamanda elde edildi (THSK, 2014). Tablo 3:1'de örnek tipi ve örneğin alındığı yere göre örnek sayısı görülmektedir.

Tablo 3:1 Örnek tipi ve örneğin alındığı yere göre örnek sayısı

Örnek tipi/ Örneğin alındığı yer	Okul (Depo)	Cami (Şadırvan)	Doğal Kaynak Suyu Çeşmesi- Deposu	Konut (Duşbaşlığı)	Toplam
Su	20	23	56	32	131
Sürüntü	6	12	34	32	84
Toplam	26	35	90	64	215

3.1.2. Araç ve Gereçler

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na ait; CO₂'li Etüv (Heal Force, Çin), sınıf II biyogüvenlik kabini (ESCO Class II BSC Airstream AC2-4E8, Türkiye), UV transillüminatör (Wisd WUV-1.20, Kore), ChemiDoc™ XRS+ with Image lab™ Software (BioRad, ABD), koloni mikroskobu (Nikon SMZ745T, Japonya), otoklav (ALP CL-32L, Japonya), distile su cihazı (nüve ND12, Türkiye), vorteks (Wisd VM-10, Kore), pastör fırını (Wiseven WON-500, Kore), bunzen beki (Isolab, Almanya), 20 °C (Arçelik, Türkiye) ve -80 °C soğutucu (Wisd WUF-500, Kore), +4 °C buzdolabı (Beko, Türkiye), su filtrasyon cihazı (Sartorius, Almanya), *Legionella* spesifik lateks aglütinasyon kiti (Migrogen M45, İngiltere), pipet kontrolörü (Isolab, Almanya), N95 maske (3M, ABD), membran filtre (0,2 µm), vakum pompası, kronometre, Hydrochloric acid (HCl) (Sigma, Avusturya), Potasyum Klorür (KCl) (Sigma, ABD), cam L baget, tek kullanımlık pipetler (1mL, 10 mL), 500 ml steril burğu kapaklı plastik kap, 15x120 mm vidalı kapaklı cam tüp, 15x160 mm vidalı kapaklı cam tüp, 25x160 mm vidalı kapaklı pyrex tüp, tek kullanımlık öze, otoklav bandı, alimünyum folyo sarf malzemeleri kullanıldı.

3.1.3. Besiyerler

BCYE Agar besiyeri (Liofilchem, İtalya) ticari olarak kullanıma hazır şekilde temin edildi. İçeriği bir litre için şu şekildedir:

- 10 gr Yeast Extract
- 17 gr Agar

- 2 gr Aktif kömür
- 1 gr Potasyum tuzu
- 10 gr ACES (2-Asetamido-2- Aminoetansülfonik asit) Buffer
- 0,4 gr L-sistein HCl
- 0,25 gr Ferrik pirofosfat
- 2,4 gr KOH

GVPC Agar besiyeri (Liofilchem, İtalya) ticari olarak kullanıma hazır şekilde temin edildi. Bir litre BCYE besiyeri içeriğine aşağıdaki antibiyotikler ve glisin aminoasidi eklenerek elde edilir:

- 0.08 gr Sikloheksimid
- 3 gr Glisin
- 8000 IU Polimiksin B
- 0.001 gr Vankomisin

Kanlı Agar besiyeri (Liofilchem, İtalya) ticari olarak kullanıma hazır şekilde temin edildi. İçeriği şu şekildedir:

- 10 gr Lab-Lemco Powder
- 10 gr Pepton
- 5 gr Sodyum klorid
- 15 gr Agar
- 50 ml Defibrinli kan

3.1.4. Solüsyonlar

HCl-KCl (pH 2.2) asit solüsyonu aşağıdaki şekilde hazırlandı:

- 0.2 N HCl: 20 ml 1 N HCl, 80 ml distile suya eklenir.
- 0.2 N KCl: 1.5 g KCl, 100 ml distile suya eklenir.
- HCl-KCl çalışma solüsyonu: 5.3 ml 0.2 N HCl ve 25 ml 0.2 N KCl, 1000 ml distile suya eklenir, pH 2.2'ye ayarlanır. Hazırlanan solüsyon otoklavlanır ve oda ısında saklanır (THSK, 2014).

3.2. Yöntem

3.2.1. Kültür

Okul depoları, cami şadırvanları, konut duş başlıkları ve doğal kaynak suyu çeşmelerinden-depolarından toplanan 215 su ve sürüntü örneği, alındıkları gün laboratuvara ulaştırılarak işleme alındı. Su örnekleri steril burgu kapaklı plastik kaplara alındı, sürüntü örnekleri ise steril swaplar kullanılarak alındı. Çalışmamızda *Legionella*'nın su ve sürüntü örneklerinden izolasyonu amacıyla BCYE ve GVPC besiyerleri kullanıldı (THSK, 2014).



Şekil 2: Örnek toplanan kaynak suyu çeşmesi (A,B) ve depo(C)

Depo, çeşme, musluk ve duş başlıklarından steril kaplara alınan su örneklerinden 0.1 ml BCYE ve GVPC besiyerlerine direk inokülasyon yapıldı. Daha sonra filtrasyon yöntemi ile yoğunlaştırma tekniği kullanılarak, aynı örnekten 50 ml su alındı ve 0.2 µm filtreden geçirildi. Elde edilen filtre steril 5 ml su içine konuldu ve 30 sn vortexlendi. Öncesinde hazırlamış olduğumuz 2 ml HCl-KCl (pH 2.2) asit çözeltisine, filtrenin bulunduğu 5 ml çözeltiden 2 ml eklendikten sonra olası *Legionella* dışı bakterilerin ölmesi için 3 dk beklendi ve 0.1 ml BCYE ve GVPC besiyerlerine inokülasyon yapıldı.

Musluk ve duş başlıklarından eküvyon çubukları ile alınan sürüntü örnekleri, 2 ml HCl-KCl (pH 2.2) asit çözeltisi bulunan tüplere konularak vortexlendi. Olası *Legionella* dışı bakterileri öldürmek için 3 dk beklendi. Sonrasında örnekten 0.1 ml alınarak BCYE ve GVPC besiyerlerine ekim yapıldı.

İnokülasyon yapılan BCYE ve GVPC besiyerleri etiketlendi ve inokülasyon tarihi etiket üzerine yazıldıktan sonra 36-37 °C, %5 CO₂ ve en az %85 nem içeren ortama konularak inkübasyona bırakıldı.

Kültür değerlendirmesine ilk olarak 3. günde başlayıp 5., 7., 10., 13. ve 15. günlerde de değerlendirme yapıldı. 5. günden sonra şüpheli olduğu düşünülen koloniler koloni mikroskobu ve UV kabin kullanılarak değerlendirildi; kenarları pembe, mor veya mavi renkte, buzlu cam görünümünde olan koloniler değerlendirmeye alındı. Değerlendirmeye alınan kolonilerden BCYE ve kanlı agar besiyerine tek koloni pasajı yapıldı. İnkübasyona bırakılan pasajlar bir gün sonra değerlendirildi ancak üreme olmamışsa bir gün daha beklendi. BCYE besiyerde üreyip kanlı agarda üremeyen koloniler olası *Legionella* olarak değerlendirildi. *Legionella* olduğu düşünülen koloniler serolojik değerlendirmeye alındı.

3.2.1. Seroloji

Çalışmamızda, ticari olarak mevcut bir lateks aglütinasyon testi (Microgen M45, İngiltere) kullanıldı (Fields 2002, (Nakipoğlu ve Gürler 2000) M45 Microgen, *L.pneumophila* ve seçici besiyerinden yaygın olarak izole edilen diğer *Legionella* türlerinin identifikasyonuna yönelik bir testtir.

Testin çalışma prensibi şu şekildedir: Test Reagent 1 (M45a) içerisindeki latex parçaları *L.pneumophila* serogrup 1'e karşı oluşan poliklonal tavşan antikorları ile kaplanmıştır. Test Reagent 2-15 (M45b) içindeki latex parçaları *L.pneumophila* serogrup 2-15'e karşı oluşan poliklonal tavşan antikorları ile kaplanmıştır. Test Reagent Species (M45d) içindeki latex parçaları 10 yaygın *Legionella* türüne karşı oluşan poliklonal tavşan antikorları ile kaplanmıştır. Bu lateks parçaları, uygun *Legionella* bakterileri ile karşılaştığında aglütinasyon sonucu gözle görünür çökelti oluşur.

Test prosedürü üretici firmanın talimatları doğrultusunda aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

1. İzotonik tuz çözeltisinden aglütinasyon slide'ı üzerindeki her üç halka içine 1'er damla damlatıldı.
2. Steril öze ile seçici agardan *Legionella* kolonilerinin 3-4 tanesi seçildi ve tuz çözeltisi ile emülsiyon yapıldı. Karıştırma çubuğu yardımıyla halka içerisinde örnek yayıldı.

- 3.** Ağır ve düz bir emülsiyon oluşturuldu. Eğer doğru emülsiyon oluştuysa ADIM 7'ye geçildi.
- 4.** Eğer oluşturduğumuz emülsiyon ipliksi veya taneli ise aşağıdaki adımlar takip edildi.
- 5.** 0,5 mL %0.85'lik tuz çözeltisi cam tüplere konuldu. Seçici besiyerinden alınan koloniler ile bulanık ve homojen bir süspansiyon oluşturuldu.
- 6.** Süspansiyon tüpleri 5 dk kaynatıldıktan sonra oda sıcaklığında soğutuldu. Lam üzerindeki üç halkadan her birine 30 µl kaynamış süspansiyon ilave edildi.
- 7.** Lateks test reaktifleri (M45a, b, c) nazikçe karıştırılarak homojen hale getirildi.
- 8.** Lam üzerindeki bakteriyel süspansiyonlardan birine Test Reagent 1'den (M45a) 1 damla, bir diğer süspansiyona Test Reagent 2-15'den 1 damla, üçüncü süspansiyona Test Reagent Species (M45d) 1 damla damlatıldı.
- 9.** Her biri için ayrı ayrı karıştırma çubuğu kullanarak reaktifler süspansiyon içerisinde karıştırıldı ve karışım halka içerisine yayıldı.
- 10.** Lam hafifçe sallandıktan sonra 2 dk bekletildi ve aglütinasyon sonuçları gözlendi.
- 11.** Lateks aglütinasyon sonuçları görüntülendi ve kaydedildi.
- 12.** Kullanılan tüm lateks lam'lar ve karıştırma çubukları tıbbi atığa bırakıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamız kapsamında toplanan 215 örneğin 131 (%60.93)'i su örneği, 84 (%39.07)'ü sürüntü örneğiydi. Çalışma kapsamında 20 (%15.27) okul deposu, 23 (%17.55) cami şadırvanı, 56 (%42.75) doğal kaynak suyu çeşmesi-deposu ve 32 (%24.42) konut duş başlığı olmak üzere 131 farklı yapıdan örnek alındı. Tablo 4:1'de çalışma örneklerinin *Legionella* üreme sonuçları, Şekil 3'de *Legionella* kolonilerinin BCYE agarda çıplak gözle ve koloni mikroskopuyla görünümü görülmektedir.

Tablo 4:1 Çalışma örneklerinin *Legionella* üreme sonuçları

Örnek tipi/ Örneğin alındığı yer	Okul (Depo)		Cami (Şadırvan)		Doğal Kaynak Suyu Çeşmesi-Deposu		Konut (Duş başlığı)		Toplam
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
Su	1	19	1 ^c	22	10 ^d	46	1 ^e	31	131 ^a
Sürüntü^b	0	6	1 ^c	11	2 ^d	32	3 ^e	29	84
Toplam	1	25	2	33	12	78	4	60	215

a: Örnek alınan toplam yer sayısı. b: sürüntü örnekleri su örnekleri ile aynı yerlerden aynı zamanda alınmıştır. c: Örnekler aynı cami şadırvanından aynı zamanda alınmıştır. d: Örnekler farklı doğal kaynak suyu çeşmeleri-depolarından alınmıştır. e: Örnekler farklı konutlardan alınmıştır.

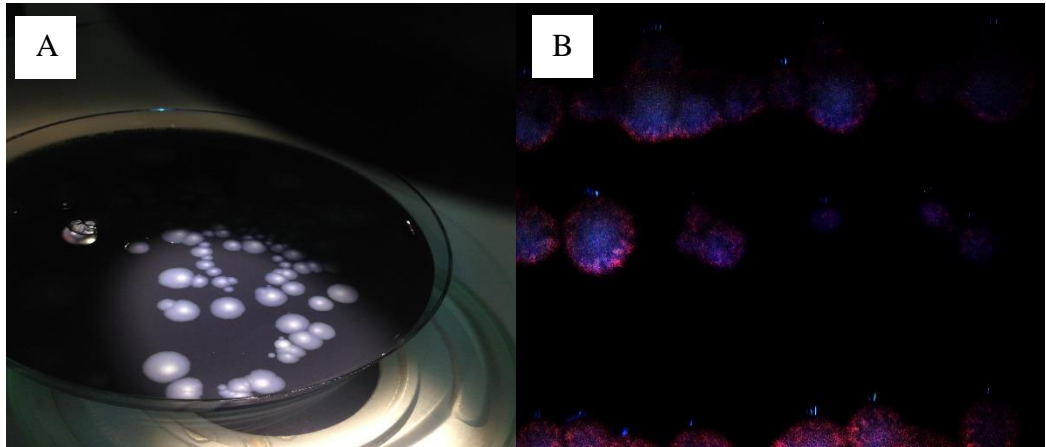
Örneğin alındığı yere göre değerlendirme yapıldığında, 20 okul deposundan su ve sürüntü örneği alındı ve yalnızca 1 okuldan alınan su örneğinde üreme tespit edildi, okul depolarında *Legionella* üreme oranı kendi içinde %5.00, örnek alınan tüm yapılara oranla (n:131) okul depolarından alınan örneklerde üreme tespit edilme oranı %0.76; 23 cami şadırvanından su ve sürüntü örneği alındı ve 1 cami şadırvanından alınan hem su hem sürüntü örneğinde üreme tespit edildi, cami şadırvanlarında *Legionella* üreme oranı kendi içinde %4.35, örnek alınan tüm yapılara oranla cami şadırvanlarından alınan örneklerde üreme tespit edilme oranı %0.76; 56 doğal kaynak suyu çeşmesi-deposundan su ve sürüntü örneği alındı ve 12 farklı doğal kaynak suyu çeşmesi-deposuna ait 10 su örneği ve 2 sürüntü örneğinde üreme tespit edildi, Doğal kaynak suyu çeşmeleri-depolarında *Legionella* üreme oranı kendi içinde %21.43, örnek alınan tüm yapılara oranla doğal kaynak suyu çeşmesi-deposundan alınan örneklerde üreme tespit edilme oranı %9.16; 32 konutun duş başlıklarından su ve sürüntü örneği alındı ve 4 farklı konutun duş başlıklarına

ait 1 su ve 3 sürüntü örneğinde üreme tespit edildi. Konut duş başlıklarında *Legionella* üreme oranı kendi içinde %12.50, örnek alınan tüm yapılara oranla konut duş başlıklarından alınan örneklerde üreme tespit edilme oranı %3.05 olarak belirlendi. Örnek alınan yapılar arasında *Legionella* tespiti açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p:0,260>0,05$).

Çalışma kapsamında örnek alınan tüm yapılar (okul, cami, doğal kaynak suyu çeşmesi-deposu ve konut) değerlendirildiğinde; 131 yapının 18'inde *Legionella* üremesi tespit edildi. Örnek alınan yapıların %13.74'unda *Legionella* tespit edildi.

Toplam 131 su örneğinin 13'ünde *Legionella* üremesi saptandığından, su örneklerinde *Legionella* üreme oranı %9.92 olurken; toplam 84 sürüntü örneğinin ise 6'sında *Legionella* üremesi saptandığından, sürüntü örneklerinde *Legionella* üreme oranı %7.14 olarak belirlendi. Örnek alım şekli (su-sürüntü) ile *Legionella* tespiti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p:0,48>0,05$). Ancak doğal kaynak suyu çeşmesi-deposundan alınan 2 sürüntü örneği ve konut duş başlığından alınan 3 sürüntü örneğinde, aynı yerlerden alınan su örneklerinde ürememe olmamasına rağmen *Legionella* tespit edildi. Su örneklerinde *Legionella* tespit oranı sürüntü örneklerine göre fazla olmakla birlikte; su örneği alınan yerlerden sürüntü örneği de alınan *Legionella* tespit oranını arttırdığı belirlenmiştir.

Çalışma kapsamındaki su ve sürüntü örneklerinin tümü değerlendirildiğinde, *Legionella* üreme oranı %8.83 [19 (pozitif örnek sayısı)/215 (toplam örnek sayısı)] olarak belirlendi.

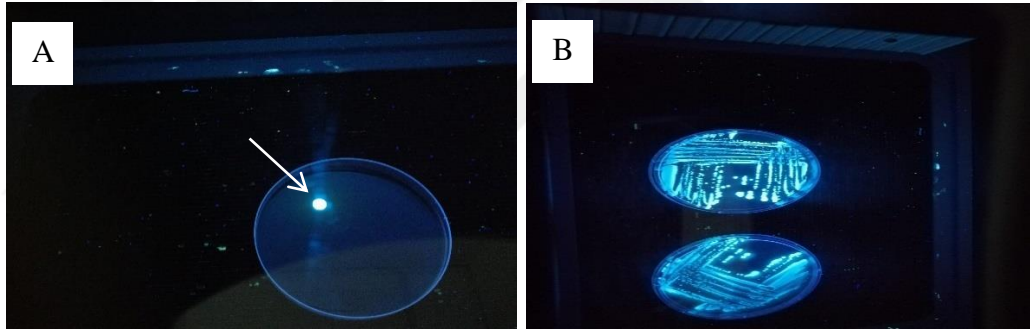


Şekil 3: *Legionella pneumophila* kolonilerinin BCYE agarda (A) çıplak gözle görünümü (B) koloni mikroskobuyla görünümü

Yapılan lateks aglutinasyon testi ile, 3 izolatın *L. pneumophila* serogrup 1, 11 izolatın *L. pneumophila* 2-15 ve 5 izolatın ise *Legionella* sp. olduğu saptandı. Şekil 4’de lateks aglutinasyon testinde bir *Legionella* izolatu için elde edilen pozitif ve negatif sonuçlar görülmektedir.



Şekil 4: Lateks aglutinasyon testinde *Legionella pneumophila* serogrup 1 pozitif (4) görünümü



Şekil 5: UV ışık altında BCYE agarda *Legionella* sp. kolonisi (A) ve pasaj (B) görünümü

Çalışmamızda cami şadırvanından alınan 2 örnekte ve doğal kaynak sularından alınan 1 örnekte *L. pneumophila* serogrup 1 ; doğal kaynak sularından alınan 9 örnekte ve konut duş başlıklarından alınan 2 örnekte *L. pneumophila* serogrup 2-15; okul depolarından alınan 1 örnekte, doğal kaynak sularından alınan 2 örnekte ve konut duş başlıklarından alınan 2 örnekte ise *Legionella* sp. olmak üzere toplam 19 su ve sürüntü örneğinde *Legionella* üremesi tespit edildi. Bir cami şadırvanından alınan hem su hem sürüntü örneğinde *L. pneumophila* serogrup 1 tespit edildi. Üreme olan diğer tüm örnekler farklı yapılardan alınmıştı. 18 farklı yapıdan alınan 19 örnekte *Legionella* tespit edilmiş oldu. *Legionella* üreyen yapıların %11.11 (p=0.15)’i *L. pneumophila* serogrup 1, %61.11 (p=0.57)’i *L. pneumophila* serogrup 2-15 ve %27.77 (p=0.26)’si *Legionella* sp. idi Tablo

4:2’de *Legionella* üreyen örneklerin örnek tipi ve örneğin alındığı yere göre tür ve serogrup dağılımı belirtilmiştir.

Tablo 4:2 *Legionella* üreyen örneklerin örnek tipi ve örneğin alındığı yere göre tür ve serogrup dağılımı

Örneğin alındığı yer-Örnek tipi	Okul (Depo)		Cami (Şadırvan)		Doğal Kaynak Suyu Çeşmesi-Deposu		Konut (Duş başlığı)		Toplam
	Su	Sürüntü	Su	Sürüntü	Su	Sürüntü	Su	Sürüntü	
<i>Legionella pneumophila</i> serogrup 1	0	0	1*	1*	1	0	0	0	3
<i>Legionella pneumophila</i> serogrup 2-15	0	0	0	0	8	1	1	1	11
<i>Legionella sp.</i>	1	0	0	0	1	1	0	2	5
Toplam	1		2		12		4		19

*Aynı cami şadırvanından alınan örnekler

5.TARTIŞMA

Legionella akarsular, nehirler, göller gibi doğal su kaynaklarında ve nemli topraklarda yaygın olarak bulunur (Diederer, 2008). İnsan yapımı su sistemleri de, bu bakteriler için elverişli ortamlar olduğundan bu ortamlarda rahatlıkla kolonize olurlar. Çok katlı evlerin su sistemlerine geçtiğinde boruların ve depoların biyofilm tabakalarında, özellikle serbest yaşayan amipler içerisinde sayılarını arttırarak olumsuz çevre koşullarından korunurlar (Kwaik ve ark. 1998) (Moffat ve Tompkins, 1992). Düşük ve yüksek sıcaklıkta canlı kalabilmektedirler. Ayrıca klora karşı yüksek direnç gösterirler. Bu nedenle klorlama yapılan sistemlerde de rahatlıkla üreyebilmektedir (Diederer, 2008).

Leoni ve arkadaşları İtalya'da yaptıkları bir çalışmada, ev sıcak sularının %30.5'undan *L. pneumophila* izole etmişlerdir (Leoni ve ark. 2005), Mouchtori ve arkadaşları, Yunanistan'daki otellere ait 385 sıcak ve soğuk su örneğinin %20.8'inde (Mouchtouri ve ark. 2006), Borella ve arkadaşları İtalya'da ev sıcak sularının (duş başlığı ve musluk) %22.6'sında *L. pneumophila* ve *Legionella sp.* izole etmişlerdir (Borella, ve ark. 2005). Zacheus ve arkadaşları Finlandiya'daki sıcak su sistemlerinden %30, Zietz ve arkadaşları Almanya'da sıcak su örneklerinden %26 oranında bu bakterileri üretmişlerdir (Zacheus ve Martikainen, 1994) (Zietz, ve ark. 2001). Çalışmamızda, 32 konutun duş başlıklarından sıcak su ve sürüntü örneği alındı ve konut duş başlıklarında *Legionella* üreme oranı %12.50 olarak belirlendi. Çalışmamızda *L. pneumophila* serogrup 2-15 ve *Legionella sp.* konut duş başlıklarından alınan örneklerden izole edildi. Çalışmamızda konut duş başlıklarından alınan sıcak su ve sürüntü örneklerinde *Legionella* tespit oranının literatür oranlarına yakın olduğu görülmektedir.

Öte yandan diğer bazı çalışmalarda *L. pneumophila*'nın daha yüksek oranlarda izole edildiğine dair bulgular da mevcuttur. Pringler ve arkadaşları Danimarka'daki binalardan topladıkları sıcak suların %89'undan (Pringler ve ark. 2002), Uzel ve arkadaşları İzmir'deki otellere ait sıcak su örneklerinin %76.2'sinden (Ataç ve ark. 2005), Borella ve arkadaşları İtalya'daki otellerin duş başlıkları ve musluklarından topladıkları sıcak su örneklerinin %60.5'inden *Legionella* izole etmişlerdir (Baladron ve ark. 2006). Suyun sıcaklığı, pH değeri, durgunluğu, içerdiği besin konsantrasyonu, klor gibi dezenfektanlar, protozoonlar, algler ve heterotrofik bakterilerin varlığı, *L. pneumophila* bakterilerinin yaşamalarını etkiler (Toze ve ark. 1990). Ayrıca ev su sistemlerindeki depoların varlığı, suyun ısıtılma şekli, binanın ve su sisteminin yaşı ile malzemesinin de bu

mikroorganizmaların varlığıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Borella ve ark. 2005) (Lin ve ark.). Bu durum çalışmalar arasında farklılıklar oluşmasına neden olabilir. Çalışmamızda, bu parametreler değerlendirilmemiştir.

Zeybek ve ark.'ları (2002) İstanbul'da yaptıkları bir araştırmada çevreden toplanan su örneklerinin %41'inde *Legionella* türü bakterilere rastlamıştır (Zeybek ve Çotuk 2002). Akkaya ve ark. 2008 yılında kayseri ilinde hastane, okul, otel ve meskenlerden alınan toplam 120 örnekte 6'sı *L.pneumophila* serogrup 1, 2'si *Legionella* sp., olmak üzere 8 örnekte *Legionella* üremesi gözlenmiştir (Akkaya ve Özbal 2011). Bir çalışmada Gaziantep il merkezinde bulunan okul, hastane ve otellere ait su depolarının, musluk sularının, soğutma sistemlerinin, musluk ve duş başlıklarının 313 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. 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 (Mutaf, 2013). Kütahya ilinde bulunan doğal ortam sularından toplam 150 adet su örneği toplanmıştır. Elde edilen 8 *Legionella* izolatının 6 tanesinin serogrubu 2-15, 2 tanesinin ise *Legionella* spp. olarak bulunmuştur (Bayraktar, 2017).

Çalışmamızda, 32 konutun duş başlıklarındaki olası biyofilm tabakalarından alınan 32 sürüntü örneğinin 3'ünde (%9.37) *Legionella* sp. izole edilmiştir. Burak, 2007 yılında yayınlanan tez çalışmasında, konut duş başlıklarından aldığı 4 sürüntü örneğinde (% 6.5) *L. pneumophila* saptamıştır. Bu çalışmada, aynı yerden alınan bir su örneğinde üreme olmamasına rağmen sürüntü örneğinden *Legionella* izole edilmiştir (Burak, 2011). Çalışmamızda, su örneklerinde *Legionella* üreme oranı %9.92 olurken; sürüntü örneklerinde *Legionella* üreme oranı %7.14 olarak belirlenmiştir. Ancak doğal kaynak suyu çeşmesi-deposundan alınan 2 sürüntü örneği ve konut duş başlığında alınan 3 sürüntü örneğinde, aynı yerlerden alınan su örneklerinde ürememe olmamasına rağmen *Legionella* tespit edilmiştir. Su örneklerinde *Legionella* tespit oranı sürüntü örneklerine göre fazla olmakla birlikte; su örneği alınan yerlerden sürüntü örneği de alınan *Legionella* tespit oranını arttırdığı belirlenmiştir. Ancak örnek alım şekli (su-sürüntü) ile *Legionella* tespiti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p:0,48>0,05$). Konut duş başlıklarından alınan sürüntü örneklerinde *Legionella* izole etme oranı bu literatür verisiyle yakın görülmektedir. Yapılan çalışmalar *L. pneumophila* bakterilerinin sıklıkla duş başlıklarını kontamine ettiklerini göstermektedir.

Lejyoner hastalığının oluşmasında *L. pneumophila* bakterilerinin konsantrasyonunun önemli olduğu belirtilmiş, 10^3 kob/l'nin risk oluşturabileceği ve 10^4 – 10^5 kob/l'nin yüksek risk oluşturduğu belirtilmiştir (Crimi ve ark. 2006) (Leoni ve Legnani 2001) Ancak çalışmamızda, su örneklerindeki koloni sayısı hesaplanmamıştır.

Bu çalışmada *Legionella* tespiti için kullanılan kültür, altın standart yöntemdir. Bu yöntemin yanı sıra, son yıllarda PCR (Polimer Zincir Reaksiyonu), DFA (Direkt floresan antikor) ve FISH (Floresan *in situ* hibridizasyon metod) moleküler teknikleri de kullanılabilir (Villari ve ark. 1998) (Dutil, ve ark. 2006). Abarkan ve arkadaşları, duş başlıklarından alınan sıcak sulardan ve havadaki aerosollerden FISH ve kültür yöntemi ile *Legionella* araştırdıkları çalışmalarında, bakteri sayısını saptamak için FISH yönteminin kültür yöntemine göre daha güvenilir olduğu sonucuna varmışlardır (Abarkan ve ark. 2007). Wellinghausen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada PCR yöntemiyle hastanelerdeki suların %98.7'sinden, kültür yöntemiyle %70.1'inden *Legionella* izole etmişlerdir (Wellinghausen ve ark. 2001). Literatür verileri değerlendirildiğinde; moleküler yöntemlerin kullanılacağı çalışmalar ile, *Legionella* tespit oranlarının artabileceği söylenebilir. Çalışmamızda, *Legionella* tespiti amacıyla moleküler bir yöntem kullanılmamıştır. Fakat, bakteri suşlarını elde edebilmek ancak kültür yöntemiyle mümkün olmaktadır. Çalışmamızda, kültür yöntemi ile izole edilen *Legionella* suşları, lateks aglütinasyon testi ile sero gruplandırma yapılmıştır.

Legionella izolasyonunda en sık kullanılan besiyerlerinden biri BCYE agardır (THSK, 2014) Bu besiyerde üremesi olası diğer mikroorganizmaları inhibe etmek için besiyerine vankomisin, polimiksin ve sikloheksimid (veya natamisin) gibi antibiyotikler ilave edilerek elde edilen GVPC-BCYE agar besiyeri de bu amaçla sık kullanılmaktadır (Bartram ve ark. 2007) (Sanden ve ark. 1992) (Pedersen, 1992). Çalışmamızda, su örnekleri direkt olarak ve asitle muamele sonrası BCYE ve GVPC agarlara inoküle edildi; böylece her su örneği için bu besiyerlere çift inokülasyon yapılmış oldu. Sürüntü örnekleri ise direkt inokülasyon yapılmadı, yalnızca asitle muamele sonrası bu besiyerlere inoküle edildi.

Örnekler BCYE-GVPC besiyerlerine inoküle edilmeden önce uygulanan asit ve sıcaklık muamelesi, *Legionella* izolasyonunu kolaylaştırmaktadır (Sanden, ve ark. 1992). Çalışmamızda, *Legionella* üreyen 19 örneğin 6 (%31,58)'sı sürüntü örneğiydi ve sürüntü örnekleri direkt inokülasyon yapılmadan asitle muamele sonrası besiyerlere inoküle edilmiştir. *Legionella* üreyen 19 örneğin 13 (%68,42)'ü su örneğiydi ve bu su örneklerinin

bu besiyerlere hem direkt inokülasyonda hem de asitle muamele sonrası yapılan inokülasyonunda *Legionella* üremesi olmuştur. Boulanger ve arkadaşları, asit ve sıcaklık yöntemlerinin, *Legionella* bakterilerinin izolasyonunda özgünlüğü arttırırken izole edilen *Legionella* sayısının %5-99'a kadar azalmasına sebep olduğunu göstermişler (Boulanger ve Edelstein 1995). Leoni ve arkadaşları, sıcaklık yönteminin asit yöntemine göre daha özgün olduğunu, fakat direkt ekim yöntemiyle sayımın, asit ve sıcaklık yöntemine göre daha güvenilir olduğunu saptamışlar, asit ve sıcaklık yönteminin *Legionella* bakterilerinin koloni sayısının %67-68 azalmasına sebep olduğunu bulmuşlardır (Leoni ve ark. 2005). Çalışmamızda sıcaklık ile muamele yapılmamıştır. Çalışmamız sonuçlarına bakıldığında, direkt ve asitle muamele sonrası kültür işleminde *Legionella* tespit oranlarının değişmediği görülmektedir. Ancak, çalışmamızda, bakteri sayısı ya da koloni sayıları not edilmemiştir. Bu nedenle asitle muamele işleminin bakteri sayısı üzerindeki etkisi değerlendirilememiştir.

L. pneumophila enfeksiyonlarına sıklıkla serogrup 1'in sebep olduğu bilinmektedir (Borella ve ark. 2005). Bu çalışmada su ve sürüntü örneklerinden izole edilen *Legionella* dağılımına bakıldığında; 18 suşun 13 (%72.22)'ü *L. pneumophila* ve 5 (%27.77)'i *Legionella* sp. olarak tanımlanmıştır. *L. pneumophila* suşlarının ise 2 (%15.38)'si *L. pneumophila* serogrup 1, 11 (%84.61)'i *L. pneumophila* serogrup 2-15 olarak tanımlanmıştır. Burak ve ark.'ları 2011'deki çalışmalarında, ev su sistemlerinden aldıkları 61 su ve sürüntü örneğinden izole ettikleri 16 *L. pneumophila* suşunun 14'ünü *L. pneumophila* serogrup 2-14 (%87.5), 2'sini ise *L. pneumophila* serogrup 1 (%12.5) olarak tanımladığını belirtmiştir (Burak, 2007). Bir çalışmada İstanbul'daki otellerden alınan su örneklerinin %23'ünden *L. pneumophila* serogrup 1, %77'sinden *L. pneumophila* serogrup 2-14 izole edilmiştir (Zeybek ve Çotuk, 2002). Çalışmamızın sonuçları bu literatür sonuçları ile uyumludur. Ancak Uzel ve arkadaşları İzmir'deki sıcak sularından aldıkları 168 örnekten %85.9 oranında *L. pneumophila* serogrup 1, %6.25 oranında *L. pneumophila* serogrup 2-14 ve %7.8 oranında diğer *Legionella* türlerini izole etmişlerdir (Atac ve ark. 2005).

Çalışmamızda örnek alınan yerler olan, konutların, okulların ve doğal kaynak sularının birçok çalışmada değerlendirildiği görülmektedir. Ancak, cami şadırvanlarının *Legionella* varlığı açısından değerlendirildiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Çalışmamız konut, okul, doğal kaynak suyu çesmesi-deposu ve cami şadırvanlarının

birlikte değerlendirildiği ilk çalışma olarak görünmektedir. Çalışmamız bölgemizde yapılan ilk çalışma olma niteliğindedir.

Çalışmamızda *L. pneumophila* izole edilen evlerde yaşayan ve örnek alınan diğer yerlerle temas halinde olan insanların *L. pneumophila* ile enfekte olup olmadıkları araştırılmamıştır. Yapılacak yeni çalışmalarla, hem çevresel hem de klinik örneklerden izole edilecek olan suşların karşılaştırılması ile enfeksiyonların kaynağı belirlenebilir.



6.SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamız kapsamında, Eylül-Ekim 2019 tarihleri arasında, Trabzon ili merkez ilçe sınırları içerisinde 131 (%60.93) su örneği ve 84 (%39.07) sürüntü örneği olmak üzere 215 örnek toplanmıştır. Bu örnekler, 20 (%15.27)'si okul deposu, 23 (%17.55)'ü cami şadırvanı, 56 (%42.75)'si doğal kaynak suyu çeşmesi-deposu ve 32 (%24.42)'si konut duş başlığı olmak üzere 131 farklı yapıdan elde edilmiştir.

Örneğin alındığı yere göre değerlendirme yapıldığında, *Legionella* üreme oranı doğal kaynak suyu çeşmeleri-depolarında %21.43; konut duş başlıklarında %12.50; okul depolarında %5.00 ve cami şadırvanlarında %4.35 olarak belirlendi. Örnek alınan yapılar arasında *Legionella* tespiti açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Çalışma kapsamında örnek alınan tüm yapılar değerlendirildiğinde; 131 yapının 18'inde *Legionella* üremesi tespit edildi. Örnek alınan yapıların %13.74'unda *Legionella* tespit edilmiştir.

Toplam 131 su örneğinin 13'ünde *Legionella* üremesi saptandığından, su örneklerinde *Legionella* üreme oranı %9.92 olurken; toplam 84 sürüntü örneğinin ise 6'sında *Legionella* üremesi saptandığından, sürüntü örneklerinde *Legionella* üreme oranı %7.14 olarak belirlendi. Örnek alım şekli (su-sürüntü) ile *Legionella* tespiti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak doğal kaynak suyu çeşmesi-deposundan alınan 2 sürüntü örneği ve konut duş başlığından alınan 3 sürüntü örneğinde, aynı yerlerden alınan su örneklerinde ürememe olmamasına rağmen *Legionella* tespit edildi. Su örneklerinde *Legionella* tespit oranı sürüntü örneklerine göre fazla olmakla birlikte; su örneği alınan yerlerden sürüntü örneği de alınmanın *Legionella* tespit oranını arttırdığı belirlenmiştir.

Çalışma kapsamındaki su ve sürüntü örneklerinin tümü değerlendirildiğinde, *Legionella* üreme oranı %8.83 [19 (pozitif örnek sayısı)/215 (toplam örnek sayısı)] olarak belirlenmiştir.

Yapılan lateks aglutinasyon testi ile, farklı yerlerden izole edilen 18 suşun 13 (%72.22)'ü *L. pneumophila* ve 5 (%27.77)'i *Legionella* sp. olarak tanımlanmıştır. *L. pneumophila* suşlarının ise 2 (%15.38)'si *L. pneumophila* serogrup 1, 11 (%84.61)'i *L. pneumophila* serogrup 2-15 olarak tanımlanmıştır.

Çalışmada örneklerin mevsimleri temsil edecek şekilde alınması, örnek alınan suların sıcaklık, pH değeri, besin ve klor içeriği, protozoonlar, algler ve heterotrofik

bakterilerin varlığı açısından değerlendirilmesi; örnek alınan yapıların ve su sisteminin yaşı, malzemesi ve suyun ısıtılma şekli gibi parametreler açısından değerlendirilmesi ve çalışmanın PCR, DFA ve FISH moleküler teknikler ile desteklenmesi önerilmektedir.



Kaynakça

- Abarkan, M., Ha, T. L., Robine, E., Navier, D., & Mathieu, L. (2007). Detection of airborne *Legionella* while showering using liquid impingement and fluorescent in situ hybridization (FISH). *J. Environ. Monit.*, 9, s. 91-97.
- Açıkgöz, N. (1997). Biyofilmler. *Mikrobiyol bülteni*, 31, s. 299-310.
- Addiss, D., Davis, J., Laventure, M., Wand, P., & Hutchinson, M. (1989). Community-acquired *Legionnaires'* disease associated with a cooling tower: evidence for longer-distance transport of *Legionella pneumophila*. *American Journal of Epidemiology*, 130(3), s. 557-568.
- Adeleke, A., Alanlari, B., Benson, R., Daneshvar, M., Pruckler, J., Ratcliff, R., Halablab, M. (2001). *Legionella drozanskii* sp. nov., *Legionella rowbothamii* sp. nov. and *Legionella fallonii* sp. nov.: three unusual new *Legionella* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(3), s. 1151-1160.
- Afacan, G., Yumruk, Z., Baskın, Y., & Balıkçı, E. (2006). Turistik bölgelerden alınan su örneklerinde *Legionella pneumophila* serogrup 2-14 sıklığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 36(4), s. 214-217.
- Akalin, H. (1993). Atypical pneumonias: therapeutic possibilities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 3, s. 75-79.
- Akbaş, E. (1996). *Legionellaceae*; Intraselüler Parazitizm. 30, s. 313-322.
- Akkaya, Z., & Özbal, Y. (2011). *Legionella* Researching in Water Depots' of Different Buildings in Kayseri. *Journal of Health Sciences*, 20(1), s. 9-17.
- Alary, M., & Joly, J. (1992). Factors Contributing to the Contamination of Hospital Water Distribution Systems by *Legionella*. *The Journal of Infectious Diseases*, 165(3), s. 565-569.
- Alim, A. (2004). Lejyoner hastalığında immunopatogenez. *Mikrobiyol Bülten*, 38, s. 295-303.
- Alli, O., Gao, L., Pedersen, L., Zink, S., Radulic, M., Doric, M., & Kwaik, Y. (2000). Temporal Pore Formation-Mediated Egress from Macrophages and Alveolar Epithelial Cells by *Legionella pneumophila*. *American Society for Microbiology.*, 68(11), s. 6431-6440.

- Arora, B., Kaur, K., & Sethi, B. (2012). Review Article *Legionellosis: An update*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 6(7), s. 1331-1336.
- Atac, U., Uçar , F., & Hameş-Kocabaş, E. (2005). Prevalence of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in water distribution systems in İzmir province of Turkey. *APMIS*, 113, s. 664-669.
- Baladron, B., Gıl, B., & Pelaz, V. (2006). Serological Versus Sequence- Based Methods for *Legionella* Identification. *American society for Mikrobiology*, s. 58-62.
- Bangsborg, J. (1997). Antigenic and genetic characterization of *Leaionella* Proteins: Contribution to taxonomy, diagnosis and pathogenesis. *APMIS*, 105, s. 5-53.
- Barbaree, J., Fields, B., Feeley, J., Gorman, G., & Martin, W. (1986). Isolation of protozoa from water associated with a *legionellosis* outbreak and demonstration of intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*. *Applied Environmental Microbiology*, 51(2), s. 422-424.
- Bartram, J., Chartier, Y., & Lee, J. (2007). *Legionella and the Prevention of Legionellosis*. India: WHO Health Organization.
- Bayraktar, Ö. S. (2017). Kütahya'da bulunan doğal ortam sularından *Legionella* spp. izolasyonu ve bazı özelliklerinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Kütahya: Dumlupınar Üniversitesi.
- Bellinger, K., & Horwitz, M. (1990). Kompleman bileşeni C3, seçici olarak *Legionella pneumophila*'nın ana dış zar proteinine (MOMP) sabitlenir ve lipozom-MOMP komplekslerinin fagositozuna insan monositleri tarafından aracılık eder. *Journal of Experimental Medicine*, 172, s. 1201-1210.
- Berger, K., & Isberg, R. (1993). Conjugative Transfer by the Virulence System of *Legionella pneumophila*. *Molecular Microbiology*, 7(1), s. 7-19.
- Best, M., Stout, J., MUDER, R. R., Yu, V. L., Goetz, A., & Taylor, F. (1983). *LEGIONELLACEAE* IN THE HOSPITAL WATER-SUPPLY: Epidemiological Link with Disease and Evaluation of a Method for Control of Nosocomial *Legionnaires'* Disease and Pittsburgh Pneumonia. *The Lancet*, 322(8345), s. 307-310.
- Bey, R., & Johnson, R. (1978). Protein-free and low-protein media for the cultivation of *Leptospira*. *Infection and Immunity*, 19(2), s. 562-569.

- Bollin, G., Plouffe, J., Para, M., & Backman, B. (1985). Aerosols Containing *Legionella pneumophila* Generated by Shower Heads and Hot Water Faucets. *American Society for Microbiology*, 50(5), s. 1128-1131.
- Bollin, G., Plouffe, J., Para, M., & Prior, R. (1985). Difference in virulence of environmental isolates of *Legionella pneumophila*. *Journal of Clinical Microbiology*, 21(5), s. 674-677.
- Borella, P., Montagna, M., Stampi S, Stancanelli, G., Spira, V., & Triassi, M. (2005). *Legionella* contamination in hot water of Italian hotels. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10), s. 5805-5811.
- Boulanger, C., & Edelstein, P. (1995). Precision and accuracy of recovery of *Legionella pneumophila* from seeded tap water by filtration and centrifugation. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(5), s. 1805-1809.
- Brender, D., Steigerwalt, A., Epple, P., Bibb, W., Mckinney, R., Starnes, R., Moss, C. (1988). *Legionella pneumophila* serogroup Lansing 3 isolated from a patient with fatal pneumonia, and descriptions of *L. pneumophila* subsp. *pneumophila* subsp. nov., *L. pneumophila* subsp. *fraseri* subsp. nov., and *L. pneumophila* subsp. *pascullei* subsp. nov. *Journal of clinical Microbiology*, 26(9), s. 1695-1703.
- Brenner, D. (1986). Classification of *Legionellaceae* : current status and remaining questions. *Israel Journal of Medical Sciences*, 22(9), s. 620-632.
- Brenner, D., Steigerwalt, A., & McDade, J. (1979). Classification of the Legionnaires' disease bacterium: *Legionella pneumophila*, genus novum, species nova, of the family Legionellaceae, familia nova. *Annals of Internal Medicine*, 90(4), s. 656-658.
- Broome, C., Cherry, W., Winn, W., & MacPherson, B. (1979, January). Rapid Diagnosis of Legionnaires Disease by Direct Immunofluorescent Staining. *Annals of Internal Medicine*, 90(1), s. 1-4.
- 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, s. 679-685.
- Ciesielski, C., Blaser, M., & Wang, W. (1986). Serogroup specificity of *Legionella pneumophila* is related to lipopolysaccharide characteristics. *Infect Immun*, 51(2), s. 419-421.

- Çotuk, A., Zeybek, Z., Kimiran, A., Türetgen, İ., & Kalaç, Y. (1998). Farklı binaların su sistemlerinde *Legionella pneumophila* izolasyonu. *Kükem Dergisi*, 21(3), s. 7-12.
- Cramer, M. (2003). Legionnaires Disease: A Case Study. *American Journal of Critical Care*, 12(3), s. 234-238.
- Crimi, P., Macrina, G., Grieco, A., & Tinteri, C. (2006). Correlation Between *Legionella* Contamination in Water and Surrounding Air. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 27(7), s. 771-773.
- Dawid, W., Fraser, M., Theodore, R., Tsai, M., & Orenstein, W. (1977). Legionnaires' Disease Description of an Epidemic of Pneumonia. *The New England Journal of Medicine*, 297(22), s. 1189-1197.
- Diederer, B. (2008). *Legionella* spp. and Legionnaires' disease. *Journal of Infection*, 56(1), s. 1-12.
- Doumon, E., Bibb, W., Rajagopalan, P., Desplaces, N., & McKinney, R. (1988). Monoclonal Antibody Reactivity as a Virulence Marker for *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Strains. *The Journal of Infectious Diseases*, 157(3), s. 496-501.
- Dutil, S., Tessier, S., Veillette, M., Laflamme, C., Mériaux, A., Leduc, A., Duchaine, C. (2006). Detection of *Legionella* spp. by fluorescent in situ hybridization in dental unit waterlines. *Journal of Applied Microbiology*, 100, s. 955-963.
- Edelstein PH. (1982). Comparative Study of Selective Media for Isolation of *Legionella pneumophila* from Potable Water. *Journal of clinical microbiology*, 16(4), s. 697-699.
- Edelstein, P. (2008). Legionnaires Disease: History and Clinical Findings. K. H. Swanson içinde, *Legionella Molecular Microbiology*.
- Edelstein, P., & Christian, L. (2015). *Legionella*. *American Society for Microbiology*, 49, s. 887-888.
- Edelstein, P., Beer, K., Sturge, J., Watson, A., & Goldstein, L. (1985). Clinical utility of a monoclonal direct fluorescent reagent specific for *Legionella pneumophila*: comparative study with other reagents. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(3), s. 419-421.
- Edelstein, P., Edelstein, M., Higa, F., & Falkow, S. (1999). Discovery of virulence genes of *Legionella pneumophila* by using signature tagged mutagenesis in a guinea pig pneumonia model. *PNAS*, 96, s. 8190-8195.

- Edelstein, P., McKinney, R., Meyer, R., Edelstein, M., Krause, C., & Finegold, S. (1980). Immunologic diagnosis of *Legionnaires'* disease: cross-reactions with anaerobic and microaerophilic organisms and infections caused by them. *The Journal of Infectious Diseases*, 141(5), s. 652-655.
- EPA. (1985). Office of Science and Technology Office of Water Washington, DC.
- Fang, G., Fine, M., Orloff, J., Arisumi, D., Yu, V., Kapoor, W., Wang, S. (1990). New and emerging etiologies for community-acquired pneumonia with implications for therapy. A prospective multicenter study of 359 cases. *Medicine*, 69(5), s. 307-316.
- Faris, B., Faris, C., Schousboe, M., & Heath, C. (2005). Legionellosis from *Legionella pneumophila* Serogroup 13. *Emerg Infect Dis.*, 11(9), s. 1405-1407.
- Feeley, J., Gorman, W., Weaver, E., Mackel, D., & Smith, W. (1978). Primary isolation media for *Legionnaires* disease bacterium. *Journal of Clinical Microbiology*, 8(3), s. 320-325.
- Fields, B., Benson, R., & Besser, R. (2002). *Legionella* and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Mikrobiol Rev*, 15(3), s. 506-520.
- Fleeley, J., Gibson, R., Gorman, G., & Langford, N. (1979). Charcoal-Yeast Extract Agar: Primary Isolation Medium for *Legionella pneumophila*. *Journal of Clinical Mikrobiyolgy*, 10(4), s. 437-441.
- Frang, G., Victor, L., YU, M., Richand, M., & Vickers, B. (1989). Disease due to the *Legionellaceae* (other than *Legionella pneumophila*). *Historical, microbiological, clinical, and epidemiological review.*, 68(2), s. 116-132.
- Fry, N., Warwick, S., Saunders, N., & Embley, T. (1991). The use of 16S ribosomal RNA analyses to investigate the phylogeny of the family *Legionellaceae*. *Journal of General Microbiology*, 137(5), s. 1215-1222.
- Gabay, J., Blake, M., Niles, W., & Horwitz, M. (1985). Purification of *Legionella pneumophila* major outer membrane protein and demonstration that it is a porin. *Journal of Bacteriology*, 162(1), s. 85-91.
- Gaia V, F. N., Gaina, V., Fry, N., Afshar, B., Luck, P., Meugnier, H., Harrison, T. (2005). Consensus Sequence-Based Scheme for Epidemiological Typing of Clinical and Environmental Isolates of *Legionella pneumophila*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(5), s. 2047-2052.

- Gao, L., & Kwai, Y. (1999). Activation of Caspase 3 during *Legionella pneumophila*-Induced Apoptosis. *American Society for Microbiology*, 67(9), s. 4886-4894.
- Glick, T., Gregg, M., Berman, B., Mallison, G., Rhodes, W., & Kassanoff, I. (1978). Pontiac Fever. *American Journal of Epidemiology*, 107(2), s. 149-160.
- Gosting, L., Cabrian, K., Sturge, J., & Goldstein, L. (1984). Identification of a species-specific antigen in *Legionella pneumophila* by a monoclonal antibody. *Journal of Clinical Microbiology*, 20(6), s. 1031-1035.
- Greer, P., Chandler, F., & Hicklin, M. (1980). Rapid Demonstration of *Legionella pneumophila* in Unembedded Tissue: An Adaptation of the Giménez Stain. *American Journal of Clinical Pathology*, 73(6), s. 788-790.
- Harrison, T., & Saunders, N. (1994). Taxonomy and typing of legionellae. *Reviews in Medical Microbiology*, 5(2).
- Hayden, R., Uhl, J., Qian, X., Hopkins, M., Aubry, M., Limper, A., Cockerill, F. (2001). Direct Detection of *Legionella* Species from Bronchoalveolar Lavage and Open Lung Biopsy Specimens: Comparison of LightCycler PCR, In Situ Hybridization, Direct Fluorescence Antigen Detection, and Culture. *American Society for Microbiology*, 39(7), s. 2618-2626.
- Hoffman, P., Pine, L., & Bell, S. (1983). Production of Superoxide and Hydrogen Peroxide in Medium Used To Culture *Legionella pneumophila*: Catalytic Decomposition by Charcoal. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(3), s. 784-791.
- Horwitz, M. (1983). Formation of a novel phagosome by the Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) in human monocytes. *Journal of Experimental Medicine*, 158, s. 1319-1331.
- Horwitz, M. (1983). The Legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) inhibits phagosome-lysosome fusion in human monocytes. *Journal of Experimental Medicine*, 158(6), s. 2108-2126.
- Horwitz, M. (1984). Phagocytosis of the legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) occurs by a novel mechanism: Engulfment within a Pseudopod coil. *Cell*, 36(1), s. 27-33.
- Horwitz, M., & Silverstein, S. (1980). Legionnaires' Disease Bacterium (*Legionella pneumophila*) Multiplies Intracellularly in Human Monocytes. *The Journal of Clinical Investigation*, 66(3), s. 441-450.

- Johnson, J., Yu, V., Wagne, R., & Bent, M. (1985). Nosocomial *Legionella pneumonia* in a population of head and neck cancer patients. *Laryngoscope*, 95, s. 1468-1471.
- Joly, J., Kinney, R., Tobin, J., Bibb, W., Watkins, I., & Ramsay, D. (1986). Development of a standardized subgrouping scheme for *Legionella pneumophila* serogroup 1 using monoclonal antibodies. *Journal of Clinical Microbiology*, 23(4), s. 768-771.
- Katz, S., & Hammel, J. (1987). The Effect of Drying, Heat and Ph on the Survival of *Legionella pneumophila*. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 17(3), s. 150-156.
- Kaufmann, A., McDade, J., Patton, C., Bennett, J., Skaliy, P., & Feeley, J. (1981). Pontiac fever: isolation of the etiologic agent (*Legionella pneumophila*) and demonstration of its mode of transmission. *American Journal of Epidemiology*, 114(3), s. 337-347.
- Kim, B., Anderson, J., Mueller, S., Gaines, W., & Kendall, A. (2002). Literature review efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems. *Water Research*, 36(18), s. 4433-4444.
- Kool JL. (2002). Control of *Legionella* in Drinking Water Systems: Impact of Monochloramine. *ASM Press*, 83, s. 411-418.
- Kuchta, M., States, S., McNamara, A., Wadowsky, R., & Yee, R. (1983). Susceptibility of *Legionella pneumophila* to Chlorine in Tap water. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(5), s. 1134-1139.
- Kwaik, Y. (1998). Fatal attraction of mammalian cells to *Legionella pneumophila*. *Molecular Microbiology*, 30(4), s. 689-695.
- Kwaik, Y. A., Gao, L.-Y., Barbara, S., Venkataraman, C., & Harb, O. (1998). Invasion of Protozoa by *Legionella pneumophila* and Its Role in Bacterial Ecology and Pathogenesis. *American Society for Microbiology*, 64(9), s. 3127-3133.
- Leoni, E., & Legnani, P. (2001). Comparison of selective procedures for isolation and enumeration of *Legionella* species from hot water systems. *Journal of Applied Microbiology*, 90, s. 28-33.
- Leoni, E., Luca, G., Legnani, P., Sacchetti, R., Stampi, S., & Zanetti, F. (2005). *Legionella* waterline colonization: detection of *Legionella* species in domestic, hotel and hospital hot water systems. *Journal of Applied Microbiology*, 98(2), s. 373-379.

- Lim, W., Macfarlane, J., Boswell, T., Harrison, T., Rose, D., Leinonen, M., & Saikku, P. (2001). Study of community acquired pneumonia aetiology (SCAPA) in adults admitted to hospital: implications for management guidelines. *Thorax*, 56, s. 296-301.
- Lin, Y.-s., Stout, J., Yu, V., & Vidic, R. (tarih yok). Disinfection of Water Distribution Systems for *Legionella*. *Seminers in Respiratory Infections*, 13(2), s. 147-159.
- Lisby, G., & Dessau, R. (1994). Construction of a DNA amplification assay for detection of *Legionella* species in clinical samples. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 13(3), s. 225-231.
- Mcdade, J., Brenner, D., & Bazeman, F. (1979). Legionnaires disease bakterium isolated in 1947. *Annals of Internal Medicine*, 90(4).
- McDade, J., Shepard, C., Fraser, D., Tsai, T., & Redus, M. (1977). Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *New England Journal Medicine*, 297(22), s. 1197-1203.
- Microbe Wiki. (2019). <https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Legionella> adresinden alındı
- Moffat, J., & Tompkins, L. (1992). A quantitative model of intracellular growth of *Legionella pneumophila* in *Acanthamoeba castellanii*. *American Society for Microbiology*, 60(1), s. 296-301.
- Mouchtouri, V., Velonakis, E., Tsakalof, A., Kapoula, C., Goutziana, G., Vatopoulos, A., Hadjichristodoulou, C. (2006). Risk Factors for Contamination of Hotel Water Distribution Systems by *Legionella* Species. *American Society for Mikrobiology*, 73(5), s. 1489-1492.
- Mülazimoğlu, L. (2002). Legionella. A. Topçu, G. Söyletir, & M. Doğanay içinde, *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. (s. 1667-1670). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Murder, R., & Yu, V. (2002). Infection Due to *Legionella* Species Other Than *L. pneumophila*. *Clinical Infectious Diseases*, 35(8), s. 990-998.
- Mutaf, S. (2013). Gaziantep il merkezindeki çeşitli soğutma sistemleri ve su sistemlerinde *Legionella pneumophila* varlığının araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi.

- Nagai, H., Kagan, J., Zhu, X., Kahn, R., & Roy, C. (2002). A Bacterial Guanine Nucleotide Exchange Factor Activates ARF on Legionella Phagosomes. *Science*, 295, s. 679-672.
- Nakipoğlu, Y., & Gürler, B. (2000). İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesinde Kullanılan Sularda *Legionella* Cinsi Bakterilerin Araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem. derg.*, 30, s. 97-104.
- Nash, T., Libby, D., & Horwitz, M. (1984). Interaction between the legionnaires' disease bacterium (*Legionella pneumophila*) and human alveolar macrophages. Influence of antibody, lymphokines, and hydrocortisone. *The Journal of Clinical Investigation*, 74(3), s. 771-782.
- Orrison, L., Bibb, W., Cherry, W., & Thacker, L. (1983). Determination of antigenic relationships among *legionellae* and non-*legionellae* by direct fluorescent-antibody and. *Journal of Clinical Microbiology*, 17(2), s. 332-337.
- Osterholm, M., Chin, T., Osborne, D., Dull, H., & Dean, A. (1983). A 1957 outbreak of Legionnaires' disease associated with a meat packing plant. *American Journal of Epidemiology*, 117(1), s. 60-67.
- Pachon, J., Prados, M., Capote, F., Cuello, J., Garnacho, J., & Verano, A. (1990). Severe Community-acquired Pneumonia. *American Review of Respiratory Disease*, 142(2), s. 369-373.
- Pascalle AW, F. J. (1980). Pittsburgh Pneumonia Agent: Direct Isolation from Human Lung Tissue. *The Journal of Infectious Diseases*, 141(6), s. 727-732.
- Pedersen, J. C. (1992). Natamycin as a Fungicide in Agar Media. *American Society for Microbiology*, 58(3), s. 1064-1066.
- Pınarbaşı, M. (2011). Eskişehir'de klinik örneklerde ve sularda *Legionella* sp. araştırılması. *Uzmanlık Tezi*. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi.
- Pounder, D. (1983). Warthin-Starry for *Legionella*. *American Journal of Clinical Pathology*, 80(2), s. 276.
- Presti, L., Riffard, S., Meugnier, H., Reyrolle, M., Lasne, Y., Grimont, P., Freney, J. (2001). *Legionella gresilensis* sp. nov. and *Legionella beliardensis* sp. nov., isolated from water in France. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(6), s. 1949-1957.
- Prevention, C. F. (2011). Legionellosis United States, 2000-2009. s. 1083-1086.

- Pringler, N., Brydov, P., & Uldum, S. (2002). Occurrence of *Legionella* in Danish Hot Water Systems. *American Society for Mikrobiology*, s. 298-301.
- Reller, B., Weinstein, M., & Murdoch, D. (2003). Diagnosis of *Legionella* Infection. *Clinical Infectious Diseases*, 36(1), s. 64-69.
- Rodgers, F., Greaves, P., Macrae, A., & Lewis, M. (1980). Electron microscopic evidence of flagella and pili on *Legionella pneumophila*. *J Clin Pathol*, 33, s. 1184-1188.
- Ruf, B., Schürmann, D., Seodel, K., & Pohle, H. (1988). Nosocomial *Legionella pneumonia*: demonstration of potable water as the source of infection. *Epidemiology Infection*, 101(3), s. 647-654.
- Sanden, G., Morrill, W., Alanları, B., Breiman, R., & Barbaree, J. (1992). Incubation of water samples containing amoebae improves detection of *legionellae* by the culture method., *American Society for Microbiology* 58(6), s. 2001-2004.
- Segal, G., Purcell, M., & Shurman, H. (1998). Host cell killing and bacterial conjugation require overlapping sets of genes within a 22-kb region of the *Legionella pneumophila* genome. *National Academy of Sciences*, 95, s. 1669-1674.
- Shawn, J., & Skerrett, M. (1994). Host defenses against respiratory infection. *Medical Clinics of North America*, 78(5), s. 941-966.
- Sopena, N., Sabira, L., & Pedro, M. (1998). Comparative Study of the Clinical Presentation of *Legionella* Pneumonia and Other Community-Acquired Pneumonias. *Chest*, 113(5), s. 1195-1200.
- States, S., Conley, L., Kuchta, J., Oleck, B., & Lipovich, M. (1987). Survival and multiplication of *Legionella pneumophila* in municipal drinking water systems. *Applied Environmental Microbiology*, 53(5), s. 979-986.
- Stone, J., & Kwai, 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. *American Society for Microbiology*, 66(4), s. 1768-1765.
- Stout, J., & Yu, V. (2003). Experiences of the First 16 Hospitals Using Copper-Silver Ionization for *Legionella* Control: Implications for the Evaluation of Other Disinfection Modalities. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 24(8).
- Stout, J., Joly, J., Para, M., Plouffe, J., Ciesielski, C., Blaser, M., & Yu, V. (1988). Comparison of Molecular Methods for Subtyping Patients and Epidemiologically

- Linked Environmental Isolates of *Legionella pneumophila*. *The Journal of Infectious Diseases*, 157(3), s. 486-495.
- Stout, J., Rihis, J., & Yu, V. (2003). *Legionella*. P. Murray. içinde Washington, D.C. : ASM Press.
- Terranova, W., Cohen, M., & Fraser, D. (1978). 1974 outbreak of *Legionnaires* disease diagnosed in 1977. *The Lancet*, 312(8081), s. 122-124.
- Thacker, S., Bennett, J., Tsai, T., Fraser, D., & Mcdade, J. (1978). An outbreak in 1965 of severe respiratory illness caused by the *Legionnaires'* disease bacterium,. *The Journal of Infectious Diseases*, 138(4), s. 512-518.
- Thomason, B., Harris, P., Lewallen, K., & McKinney, R. (1979). Preparation and Testing of a Polyvalent Conjugate for Direct Fluorescent-Antibody Detection of *Legionella pneumophila*. *Current Microbiology*, 2, s. 357-360.
- THSK. (2014). Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Suda *Legionella* Türlerinin Tanımlanması.
- THSK. (2016). Lejyoner Hastalığı Kontrol Programı Rehberi. (978-975-590-610-2). Ankara: Sağlık Bakanlığı.
- Tobin, R., Ewan, P., Walsh, K., & Dutka, P. (1986). A survey of *Legionella pneumophila* in water in 12 Canadian cities. *Water Reselarch*, 20(4), s. 495-501.
- Toze, S., Sly, L., Macrae, I., & Fuerst, J. (1990). Inhibition of Growth of *Legionella* Species by Heterotrophic Plate Count Bacteria Isolated from Chlorinated Drinking Water. *Current Microbiolog*, 21, s. 139-143.
- Tümer, V., & Er, D. (1999). *Legionella* Türlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri ve Laboratuvar Tanısı. *Flora*, 4(1), 9-25.
- Verissimo, A., Marrao, G., Gomes, F., & Costa, M. (1991). Distribution of *Legionella* spp. in Hydrothermal Areas in Continental Portugal and the Island of S-ao Miguel, Azores. *Applied and environmental Microbiology*, 57(10), s. 2921-2927.
- Villari, P., Motti, E., Farullo, C., & Torre, I. (1998). Comparison of conventional culture and PCR methods for the detection of *Legionella pneumophila* in water. *Letters in Applied Microbiology*, 27, s. 106-110.
- Vonberg, R., Eckmanns, T., Bruderek, J., Rüden, H., & Gastmeier, P. (2005). Use of terminal tap water filter systems for prevention of nosocomial *Legionellosis*. *Journal of Hospital Infection*, 60(2), s. 159-162.

- Vural, T. (2014). Legionella İnfeksiyonları. *Ankem Dergisi*, 28, 167-176. 12 5, 2019 tarihinde alındı
- Wadowsky, R., & Yee, R. (1985). Effect of non *Legionellaceae* bacteria on the multiplication of *Legionella pneumophila* in potable water. *Applied Environmental Microbiology*, 49(5), s. 1206-1210.
- Wellinghausen, N., Frost, C., & Marre, R. (2001). Detection of *Legionella* in Hospital Water Samples by Quantitative Real-Time LightCycler PCR. *American Society for Microbiology*, 67(9), s. 3985-3993.
- Winn, W. (2006). S. D. Koneman EW içinde, *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed.* New York: Lippincott Williams & Wilkins.
- Winn, W., Koneman, E., Stephen, D., Gary, W., & Janda, W. (2006). *Schreckenberger PC, Woods GL.* New York.
- Witherall, L., Duncan, R., Stone, K., Stratton, L., Orciari, L., Kappel, S., & Jillson, D. (1988). Investigation of *L. pneumophila* in drinking water. *American Water Works Association*, 80(2), s. 87-93.
- Woo, A., Yu, V., & Goetz, A. (1986). Potential in-hospital modes of transmission of *Legionella pneumophila*. Demonstration experiments for dissemination by showers, humidifiers, and rinsing of ventilation bag apparatus. *The American Journal of Medicine*, 80, s. 567-573.
- Yu, V. (1993). Could aspiration be the major mode of transmission for *Legionella*? *The American Journal of Medicine*, 95, s. 13-15.
- Yu, V. (1995). *Legionella pneumophila* (Legionnaires' Disease).. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R Principles and Practice of Infectious Disease 4 th. *Churchill Livingstone Inc*, s. 2087-2097.
- Yu, V., Kroboth, F., Shonnard, J., Brown, A., McDearman, S., & Magnussen, M. (1982). *Legionnaires'* disease: New clinical perspective from a prospective pneumonia study. *The American Journal of Medicine*, 73(3), s. 357-361.
- Zacheus, O., & Martikainen, P. (1994). Occurrence of *Legionella* in hot water distribution systems of Finnish apartment buildings. *Canadian Journal of Microbiology*, 40(12), s. 993-999.
- Zeybek, Z., & Çotuk, A. (2002). Relationship between colonization in building water systems with *L. pneumophila* and the environmental factors. 5th International

Conference on Legionella. R. Marre, Y. Kwaik, C. Bartlett, N. Cianciotto, B. Fields, M. Frosch, & J. Hacker içinde, *ASM* (s. 305-308).

Zietz, B., Wiese, J., Brengelmann, F., & Dunkelberg, H. (2001). Presence of *Legionellaceae* in warm water supplies and typing of strains by polymerase chain reaction. *Epidemiology and Infection*, *126*(1), s. 147-152.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Uğur AYHAN

Doğum Yeri/Tarih: Vakfikebir/1978

Yabancı Dili: İngilizce

E-mail: ugurayhan@hotmail.com / ugurayhan6161@gmail.com

İletişim Bilgileri: 05053117549

Eğitim Bilgileri

Derece	Bölüm/Program	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Yıl
Lisans	Biyoloji	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2009
Lisans	Kamu Yönetimi	Anadolu Üniversitesi	2008
Ön Lisans	Tıbbi Laboratuvar	Atatürk Üniversitesi	2001
Lise	Fen Bilimleri	Vakfikebir Lisesi	1996

İş deneyimi

Görev	Görev Yeri	Yıl
Klinik Biyokimya ve Klinik Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu	Trabzon Halk Sağlığı Laboratuvarı	2015-Devam
Laboratuvar Teknikeri	Trabzon Bölge Verem Savaş Dispanseri	2007-2015
Laboratuvar Teknikeri	K.T.Ü TıpFak. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı	2004-2007

Sertifikalar

TS EN ISO 15189 Standardı Temel ve Dokümantasyon Eğitimi

TS EN ISO 15189 Standardı İç Tetikçi Eğitimi

Genel Metroloji, Kalibrasyon ve Kalibrasyon Sertifikalarının değerlendirilmesi Eğitimi

ARAŞTIRMA İZİNLERİ

Tez çalıőmamda okullardan toplanan örnekler için Trabzon İl Milli Eğitim Müdürlüğü'den valilik oluru ile; cami Şadırvanlarından toplanan örnekler için Ortahisar İlçe Müftülüğü'den kaymakamlık oluru ile; konutlardan toplanan örnekler için ikamet sahiplerinden izin alınmıştır.



T.C.
ORTAHİSAR KAYMAKAMLIĞI
İlçe Müftülüğü

Sayı : 39232533-622.03-E.385904
Konu : Bilgi ve Belge Talepleri

22.07.2019


KAYMAKAMLIK MAKAMINA

İlgi : Uğur AYHAN'ın 19.07.2019 tarihli dilekçesi.


İlgi dilekçe ile Giresun Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalında yüksek lisans yapmakta olan Uğur AYHAN, tez konusu olan insan yapımı su sistemlerinde çoğalan, enfeksiyon kaynağı olan legionella bakterisini araştırmak için ilçemiz sınırları içinde bulunan cami şadırvanı, cami klimaları ve sıcak, soğuk su sistemlerinden örnek almak istemektedir.

Bu itibarla Yüksek Lisans öğrencisi Uğur AYHAN'ın talebinin karşılanması hususunu;

Olurlarınıza arz ederim.

 e-imzalıdır
İhsan SUBAŞ
İlçe Müftü V.

OLUR
22/07/2019

 e-imzalıdır
Tolga TOĞAN
Kaymakam

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu hükümleri uyarınca elektronik imza ile imzalanmıştır.



T.C.
TRABZON VALİLİĞİ
İl Millî Eğitim Müdürlüğü

Sayı : 82438636-605.99-E.16856670
Konu : Araştırma İzni
(Uğur AYHAN)

12/09/2019

VALİLİK MAKAMINA

Giresun Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans öğrencisi Uğur AYHAN'ın "**Trabzon İli Binalarının Su Sistemlerinde Legionella Araştırılması**" isimli tez çalışmasına yönelik İlimizdeki Ortahisar ilçesine bağlı okullarda çalışma yapma isteği Müdürlüğümüz Araştırma İzinleri Değerlendirme Komisyonu tarafından incelenmiştir.

Bahsi geçen çalışmanın kapsamında eğitim öğretimi aksatmayacak şekilde okul bina sorumlularından izin alınarak yine onların gözetiminde 2019–2020 eğitim öğretim yılında okul binalarında bulunan su kaynaklarından örnekler alması gerekmektedir.

Araştırmacının 2017/25 sayılı genelge çerçevesinde hareket etmesi, **izinsiz herhangi bir çalışma yapmasına kesinlikle izin verilmemesi**, elde edilen verilerin çalışma kapsamı dışında kullanılmaması, sonuçların bir örneğinin Ar-Ge birimine teslim edilmesi kaydıyla, çalışmanın okul müdürlerinin de uygun göreceği zamanlarda ve kontrolünde uygulanması Müdürlüğümüzce uygun görülmektedir.

Makamlarınızca da uygun görüldüğü takdirde olurlarınıza arz ederim.

Hızır AKTAŞ
Millî Eğitim Müdürü

OLUR
12/09/2019

Mehmet YAPICI
Vali a.
Vali Yardımcısı