

İstanbul'da Üç Eğitim Hastanesinin Depo ve Musluk Sularında *Legionella* Bakterilerinin Araştırılması

Fatma Köksal¹, Nalan Oğuzkurt², Mustafa Samastı¹

Özet: Doğal sularda, toprak ve çevrede yaygın olarak bulunan *Legionella* türleri insan yapımı sistemlerde (su dağıtım sistemleri, oda nemlendiricileri, soğutma kuleleri) yoğun şekilde kolonize olabilmekte ve diğer bakterilere göre klora daha fazla direnç göstermektedirler. *Legionella* türlerinin sebep olduğu toplumdaki kazanılmış pnömoni sıklığı, İngiltere'de %2, Almanya'da %5, Fransa'da %10 olarak bildirilmiştir. Çeşitli yayınlarda mortalitesi %30-50 oranında olduğu belirtilen nozokomiyal lejyoner hastalığı ülkemizde ancak sporadik vakalar olarak bildirilmiştir. 1998 Mayıs-Ağustos tarihinde İstanbul'da üç eğitim hastanesine ait 13 depo ve 48 musluk suyu örneği membran filtre metodu ile incelendi. Bir hastaneden alınan 4 musluk suyu örneğinde *Legionella* spp. üredi. Bunlardan 3'ü *Legionella pneumophila* serogrup 1 ve 1'i *Legionella* sp. olarak idantifiye edildi. Ayrıca 9 depo ve 1 musluk suyu örneğinde koliform bakteri, 2 depo suyu örneğinde de *Escherichia coli* tespit edildi. Bu sonuçlar hastanede gelişen pnömonilerde *Legionella* bakterilerinin de dikkate alınması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle hastane depo ve musluk suları belirli aralıklarla *Legionella pneumophila* yönünden incelenmelidir.

Anahtar Sözcükler: *Legionella* spp., depo suları, musluk suları.

Summary: Investigation of *Legionella* species in store and tap water samples from three teaching hospitals in Istanbul. *Legionella* species are the causative agent of legionnaires' disease, which is a febrile and pneumonic illness. They live in natural waters, soils and may be present in store and tap waters to homes, apartment buildings, hotels, hospitals, and other buildings. The organisms appear to survive despite the usual chlorination procedures of municipal water treatment facilities. Between 1998 May-August, 13 store water and 48 tap water samples from the three teaching hospitals investigated for *Legionella* spp. by membrane filtration method and by using selective buffered charcoal yeast extract (BCYE) agar. Only in the four tap water samples of one hospital found contaminated with *Legionella* spp. 3 of four samples were identified as *L. pneumophila* serogrup 1 and one *Legionella* spp. was identified. In addition to these findings coliform bacteria was isolated from the nine of store water samples and from one of tap water samples. *Escherichia coli* were isolated in 2 of store water samples. These findings show us that the *Legionella* species can play an important role in the hospital-acquired pneumonia. For this reason, the store and tap waters of hospitals must be investigated for *Legionella pneumophila* in certain periods of time.

Key Words: *Legionellae*, store waters, tap waters.

Giriş

Doğal sularda, toprak ve çevrede yaygın olarak bulunan *Legionella* türleri insan yapımı sistemlerde (su dağıtım sistemleri, oda nemlendiricileri, soğutma kuleleri) yoğun şekilde kolonize olabilmekte ve diğer bakterilere göre klora daha fazla direnç göstermektedirler (1,2). Solunum sistemine afinitesi olan bu bakteriler çoğunlukla kontamine su aerosollerini ya da içme suyunun aspirasyonu ile insanlara bulaşmaktadır (3). Altta yatan kronik hastalığı bulunanlar, yaşlı insanlar, sigara tiryakileri, bağışık sistemi baskılanmış olanlar ve cerrahi girişime maruz kalanlar *Legionella* infeksiyonlarına çok daha duyarlı bulunmuşlardır (3). Bu nedenle hastane sularında bu bakterilerin mevcudiyeti ciddi bir risk oluşturmaktadır. *Legionella* bakterileri hastane kaynaklı pnömonilerin önemli bir nedenidir. Hastanede yatan hastalarda görülen *Legionella* infeksiyonlarının kaynağı olarak

içme suyu, sıcak su sistemleri, duş ve banyolar, havalandırma sistemleri, nazogastrik tüpler, nemlendiriciler, maskeler, solunum cihazları, soğutma kuleleri, buhar kondansatörleri sorumlu tutulmaktadır (3,4). Birçok ülkede lejyoner hastalığı salgınları bildirilmiştir. Fakat bu infeksiyonların gerçek insidansı bilinmemektedir (3,5,6).

Ülkemizde hastane su örneklerinde *Legionella* bakterileri elde edildiği bildirilmekle birlikte, bu konuda yapılmış çalışmalar henüz çok yetersiz durumdadır. Bu çalışmada İstanbul'un üç eğitim hastanesinde su örneklerinde *Legionella* bakterilerinin varlığı araştırılmıştır.

Yöntemler

1998 Mayıs, Haziran ve Ağustos aylarında İstanbul'da üç eğitim hastanesine ait 13 depo ve 48 musluk suyu olmak üzere toplam 61 su örneği, membran filtre metodu ile *Legionella* bakterileri yönünden incelendi. Bu amaçla örnekler, ağızları mantar tıpalı 1000 ml'lik kahverengi şişelerle toplandı ve 0.2 µm por büyüklüğünde membran filtreden (Millipore HAWG047S1, lot H6PM10572) süzülerek konsantre edildi. Filtreler içinde 5 ml buyyon bulunan steril Falcon tüplerine alındı ve vorteks cihazında çalkalanarak bakterilerin buyyona geçmesi sağlandı. Buradan BCYE-, MWY ve

(1) İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa-İstanbul

(2) İSKİ Feriköy Temiz Su Laboratuvarı, Şişli-İstanbul

9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (3-8 Ekim 1999, Antalya)'nde bildirilmiştir.

Tablo 1. *Legionella* Bakterilerinin Dağılımı

Hastaneler	Örnek Sayısı	<i>L. pneumophila</i> Serogrup 1	<i>Legionella</i> sp	Koliform Bakteri	Dışkı Kaynaklı <i>E. coli</i>
İÜCTF* Depo	6	-	-	4	1
İÜİTF** Musluk	14	-	-	-	-
İÜİTF** Depo	4	-	-	3	-
İÜİTF** Musluk	6	-	-	-	-
SBŞEEAH*** Depo	3	-	-	2	1
İÜİTF** Musluk	28	3	1	1	-
Toplam	61		4 (%7)	10	2

* İÜCTF: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
** İÜİTF: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
*** SBŞEEAH: Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi

BMPA besiyerlerine (asit uygulamasından önce ve sonra olmak üzere) ekimler yapıldı (1,7).

Örneklere asid uygulaması: Steril tüplerde 0.9 ml miktarlarında hazırlanmış olan asid çözeltisine (5.3 ml 0.2N HCl + 25 ml 0.2N KCl ve 100 ml distile su, pH 2.2) 0.1 ml örnek sıvısı ilave edilerek vorteks cihazında çalkalandı ve 4 dakika sonra tekrar vortekslenerek üçer damla halinde besiyerlerine ekildi (7).

Plakların etrafı parafilm ile kapatılıp cam kavanozlara yerleştirildi. Kavanozların içinde mum yakılarak (%2-5 CO₂'li ortam sağlamak için) kapakları sıkıca kapatıldı ve 35°C'de 10 gün süreyle inkübe edildi. Her 48 saatte bir *Legionella* kolonilerinin oluşup oluşmadığı kontrol edildi (1-3).

Besiyerlerinde üreyen gri-beyaz, mavi-yeşil, yahut buzlu cam görünümünde, inci tanesini andıran, konveks, 1-4 mm çapındaki kolonilerden kanlı plak ve BCYE- besiyerine pasaj yapılarak CO₂'li ortamda, 35°C'de inkübe edildi. Her 48 saatte bir kontrol edilerek 10 gün süreyle incelendi. Kanlı plakta üremeyip BCYE- besiyerinde üreyen S tipindeki kolonilerden Gram (zıt boya olarak karbol fuksin kullanıldı) ve Giemsa preparatları hazırlandı (4). Küçük, filamentöz Gram-negatif basiller lam aglutinasyonu (*L. pneumophila* Immune Sera, Denka Seiken) ve direkt fluoresan antikor yöntemiyle (*L. pneumophila* Immunofluorescence detection and identification, Argene Biosoft ve Euroimmun) test edilerek *L. pneumophila* olduğu doğrulandı.

***Legionella* besiyerleri (pH 6.9):** [1] BCYE- [*Legionella* CYE Agar Base (Oxoid) + *Legionella* BCYE Growth Supplement (Oxoid, code SR110C)]; [2] MWY [BCYE- + *Legionella* MWY Selective Supplement (Oxoid) (code SR118B=glisin+polimiksin B+anizomisin+van-komisin+bromotimol mavisi+bromokrezol moru)]; [3] BMPA [BCYE- + *Legionella* BMPA- Selective Supplement (Oxoid) (code SR111E=sefamandol+polimiksin B+anizomisin)].

Sonuçlar

Araştırmamızda elde edilen bulgular Tablo 1'de gösterilmiştir. İncelediğimiz üç büyük hastaneye ait 13 depo su-

yunun hiçbirinde *Legionella* cinsi bakteri bulunmadığı halde, 48 musluk suyu örneğinin 4'ünde (Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden alınan örneklerden) *Legionella* cinsi bakteri izole edilmiştir. Bu bakterilerin 3'ü *L. pneumophila* serogrup 1 olarak idantifiye edilmiştir. Ayrıca incelediğimiz örneklerden toplam 10 koliform bakteri ve 2 dışkı kaynaklı *E. coli* izole edilmiştir.

İrdeleme

Legionella bakterileri tabiatta yaygın şekilde bulunan ve başlıca kontamine sularla insana bulaşarak ağır pnömoni (lejyoner hastalığı), bazen de grip benzeri hastalık (Pontiac ateşi) oluşturabilen etkenlerdir. Kronik kardiyopulmoner hastalığı olan ve bağışıklığı baskılanmış bireylerde *Legionella* enfeksiyonları %80 gibi yüksek mortalite ile seyretmektedir (8). Bilhassa hastane, otel gibi yerlerde bulunan sıcak su sistemleri bakteriler için rezervuar görevi yapabilmektedir. Böyle durumlarda hastalık salgınlar şeklinde görülmektedir. Nozokomiyal pnömonilerin %1-40 kadarında bu bakterilerin etken olduğu belirtilmektedir (8). Çeşitli yayınlarda nozokomiyal legionelloz mortalitesinin %30-50 arasında olduğu bildirilmektedir. Şimdiye kadar klinik ve çevre örneklerinden izole edilmiş 41 tür bildirilmiştir (3).

Toplumdan kazanılmış pnömonilerde *Legionella* türlerinin *Streptococcus pneumoniae* (%15) ve *Haemophilus influenzae* (%11)'den sonra üçüncü sıklık sırasında yer aldığı bildirilmektedir. Bu oran Fransa'da %10, ABD'de %7, Almanya'da %5 ve İngiltere'de %2 olarak bildirilmiştir (3,5,6,9). Ülkemizde ancak sporadik vakalar tespit edilmiştir (10,11).

Lejyoner hastalığı vakalarının %85 kadarı *L. pneumophila* (%50 serogrup 1 ve %10 serogrup 6) tarafından oluşturulmaktadır. İkinci sıklıkta *L. micdadei* izole edilmektedir (8).

İnsana bulaşma genellikle kontamine su aerosollerinin solunmasıyla oluşmaktadır. Kontamine suların kullanıldığı nebulizatörler, nemlendiriciler, solunum aletleri bulaşmalarda rol oynamaktadır. Louisiana'da bir markette sebzeleri nemli tutmak için kullanılan ultrasonik sisleme makinesine bağlı olarak oluşmuş lejyoner hastalığı salgını bildirilmiştir (3,8).

Legionella bakterilerinin su şebekelerinde yaşayabilmesinde boru sistemlerinin yapısı önemli rol oynamaktadır. Sıcak su sistemlerinde kullanılan silikon bazlı lastikler bakterilere önemli avantaj sağlamaktadır. Ayrıca contalardaki reçinelerin çeşidi, biyofilmlerin ve "slime" tabakasının oluşması, protozoon ve algler, *Legionella* bakterilerinin bulunuşunu kolaylaştırmaktadır (2,3,12). Isıtma ve soğutma sistemlerinin bir parçasını oluşturan yoğunlaştırma kuleleri ve sistemin ölü uç kısımları bakterilerin yerleşmesi için oldukça elverişli yerlerdir. *Legionella* bakterileri banyo suları ve duş başlıklarında bulunmakla beraber bu tarz bir bulaşmanın olduğu kesin olarak gösterilememiştir (3).

Legionella bakterileri çeşitli ülkelerde depo, musluk suları, hastane sıcak su sistemleri ve nemlendirici sularından elde edilmiştir (10,13-17). Ülkemizde de çeşitli araştırmacılar tarafından çevre su örneklerinden (13) ve hastane nemlendirici rezervuarlarından (10,16,18,19) *L. pneumophila* izole edilmiştir.

Bu çalışmamızda incelediğimiz üç eğitim hastanesinden sadece birinde musluk suyu örneklerinde 3 *L. pneumophila* serogrup 1 ve 1 *Legionella* sp. üremiştir. Aynı hastanede 1996 yılında yapılmış bir araştırmada da 4 musluk suyu örneğinde *L. pneumophila* elde edildiği bildirilmiştir (18).

Klinik vakalarla bir bağlantı kurulmamış olmakla birlikte bu bulgular nozokomiyal pnömoniler açısından *Legionella* bakterilerinin dikkate alınması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak hastane su sistemlerinde henüz ciddi boyutta bir kontaminasyon mevcut değildir. Fakat belirli aralarla suların *Legionella* yönünden izlenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- Eaton AD, Clesceri LS, Greenberg AE. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington, DC: American Public Health Association, 1992: 149-87
- Fields BS: Legionellae and legionnaires' disease. In: Hurst CJ, Knudsen GR, Melnerney MJ, Stetzenbach LD, Walter MV, eds. *Manual of Environmental Microbiology*. Washington, D.C: ASM Press, 1997: 666-75
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, 1997: 473-89
- Rodgers FG, Pasculle AW. Legionella. In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington, DC: ASM Press, 1991: 442-53
- Colville A, Crowley J, Dearden D, Slack RC, Lee JV. Outbreak of legionnaires disease at University Hospital, Nottingham: epidemiology, microbiology and control. *Epidemiol Infect* 1993; 110 (1):105-16
- Nechwatal R, Ehret W, Klatte OJ, Zeissler HJ, Prull A, Lutz H. Nosocomial outbreak of legionellosis in a rehabilitation center. Demonstration of potable water as a source. *Infection* 1993; 21(4): 235-40
- Baron EJ, Finegold SM. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 8th ed. St Louis: CV Mosby, 1990:578-87
- Pongratz A, Schwarzkopf A, Hahn H, Heesemann J, Karch H, Doll W. The effect of the pipe material of the drinking water system on the frequency of Legionella in hospital. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1994; 195(5):483-8
- Walker TS. *Microbiology*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1998
- Müsellim B, Vahaboğlu H, Sipahioğlu B, Umut S, Yıldırım N. Üç Legionella pnömonisi: olgu bildirisi. *Endoskopi Derg* 1994; 2:89-94
- Vural T, Süleymanlar G, Demircan A, Ergin Ç, Öngüt G, Kargı AB, Günay G. Direkt floresan antikor yöntemi ve kültür ile teyit edilen 4 lejyoner hastalığı olgusu [Özet]. In: Ağaçfidan A, Badur S, Külekçi G, eds. XXVII. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi* (7-10 Mayıs 1996, Antalya) *Program ve Özet Kitabı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti & Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği: 207
- Vural T, Ergin Ç, Öngüt G, Mamikoğlu L, Özçelik FT: Hastane nemlendiricilerinden Legionella pneumophila izolasyonu [Özet]. In: Ağaçfidan A, Badur S, Külekçi G, eds. XXVII. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi* (7-10 Mayıs 1996, Antalya) *Program ve Özet Kitabı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti & Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği: 201
- Baskın H, Önal O, Kıratlı H. A modification in Legionella pneumophila isolation from environmental water samples. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg* 1998; 28:7-10
- Baulanger CA, Edelstein PH. Precision and accuracy of recovery of Legionella pneumophila from seeded tap water by filtration and centrifugation. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61(5):1805-9
- Liu WK, Healing DE, Yeomans JT, Elliot TS. Monitoring of hospital water supplies for Legionella. *J Hosp Infect* 1993; 24:1-9
- Perente S, Yağcı A, Söyletir G. Alt solunum yolu örneklerinde ve hastane su örneklerinde Legionella pneumophila sıklığı. *İnfeksiyon Derg* 1999; 13(4):477-81
- Rogers J, Dowsett AB, Dennis PJ, Lee JV, Keevil CW. Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of Legionella pneumophila in a model potable water system containing complex microbial flora. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60(5):1585-92
- Yıldırım İ. Şişli Etfal Hastanesi su dağıtım sisteminde Legionella pneumophila ve diğer Legionella türlerinin araştırılması [Uzmanlık Tezi]. İstanbul: Şişli Etfal Hastanesi, 1996
- Nakiboğlu Y, Gürler B. İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesinde kullanılan sularda Legionella cinsi bakterilerin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg* 2000; 30:97