

Bir Üniversite Hastanesi Su Sistemlerinde *Legionella* Türlerinin Araştırılması

Seyda İGNAK, Bülent GÜRLER

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Hastane su sistemlerinin *Legionella* türleri ile kolonizasyonu, özellikle bağışıklığı baskılanmış, cerrahi girişime maruz kalmış veya altta yatan kronik hastalığı bulunan kişilerde nozokomiyal lejyonelloza neden olabilmektedir. Bu çalışmada, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi su sistemlerinde *Legionella* türlerinin sıklığı ve kaynaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Eylül 2006-Şubat 2007 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi'nin 15 farklı bölüm ve idare binasından 100 su örneği (92 duş başlığı ve musluk suyu, sekiz depo suyu) alınarak *Legionella* yönünden incelenmiştir. Örnekler, filtrasyon yöntemi ile konsantre edilmiş ve asit ile dekontaminasyon işlemi uygulanmıştır. Dekontaminasyon sonrası örnekler glisin, vankomisin, polimiksin B ve sikloheksimid içeren besiyerine (GVPC agar) ekilmiştir. Şüpheli kolonilerin tanımlanmasında Gram boyama yöntemi ve oksidaz, katalaz, hippurat hidrolizi gibi biyokimyasal testler kullanılmış ve serogrup düzeyinde tanısı için lateks aglütinasyon ve direkt floresan antikor yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Bulgular: Çalışılan örneklerin %7'sinde *Legionella* bakterisi bulunmuştur. Lejyoner hastalığı vakalarının önemli bir kısmından sorumlu tutulan *Legionella pneumophila* serogrup 1 izolasyon oranı ise %3 olarak belirlenmiştir. İzole edilen yedi suşun beş tanesi çocuk sağlığı ve hastalıkları servisinden alınan örneklerden, bir tanesi anestezi ve reanimasyon ünitesinden alınan örneklerden, bir tanesi ise su deposundan alınan örneklerden üremiştir. Üreme olan su deposunun beslediği servislerde ise *Legionella* saptanmamıştır.

Sonuç: *Legionella* türlerinin su sistemlerinde çoğalarak insan sağlığı açısından önemli bir risk faktörü oluşturduğu göz önünde bulundurulduğunda, bu ve bunun gibi araştırmaların ilgili meslek gruplarında farkındalık yaratabilmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Legionella* türleri, su sistemleri, hastane enfeksiyonları

SUMMARY

An Investigation of *Legionella* Species in the Water System of a University Hospital

Objective: It is well known that *Legionella* spp. colonization of water systems of hospitals can provoke nosocomial legionellosis especially in immunocompromised patients who had undergone invasive surgery or had underlying chronic diseases. In our study, the source and the prevalence of *Legionella* spp. in water system of Hospitals of Istanbul Medical Faculty were investigated.

Materials and Methods: In our study, between September 2006-February 2007, 100 water samples (92 from showerheads and taps, 8 from water tank) obtained from 15 different departments and management buildings in the Hospitals of Istanbul Medical Faculty were analyzed. All samples were concentrated via filtration and decontaminated via acid exposure method. After decontamination process the samples were cultured on glycine, vancomycin, polymixin B, and cycloheximide (GVPC) *Legionella* selective agar. *Legionella* suspected colonies were studied further with latex agglutination and direct fluorescence antibody methods for identification of *Legionella* species and serogroups level.

Results: In our research, 7% of the samples were found positive for *Legionella* spp. The isolation rate of *Legionella pneumophila* serogroup 1, which is the main causative agent of Legionnaire disease, was found to be 3 percent. Five out of 7 strains were isolated from samples obtained from the services of Department of Children's Health, and Diseases, one strain was isolated both from the samples recruited from the Anesthesia and Reanimation Unit, and water tank. *Legionella* strain did not grow in cultures of the samples obtained from the services whose water supply was provided from the water tank.

Conclusion: We think that the findings of this study can provide data for risk assessment and will direct authorised people to take measures about prevention of possible hospital-acquired legionellosis.

Key words: *Legionella* species, water system, hospital infection

GİRİŞ

Legionella bakterileri Lejyoner hastalığı, Pontiac ateşi ve ekstrapulmoner enfeksiyonlardan sorumludur. *Legionella* türlerinin neden olduğu enfeksiyonla-

ra lejyonelloz adı verilmektedir. Bildirilen lejyonelloz vakalarının önemli bir bölümünden *L. pneumophila* serogrup 1'in sorumlu olduğu, ancak diğer *L. pneumophila* serogrupları ve *Legionella* türlerinin de patojen olduğu bilinmektedir^(1,2). *L. micdadei* gibi

Alındığı tarih: 30.06.2012

Kabul tarihi: 27.07.2012

Yazışma adresi: Seyda İgnak, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa - İstanbul

e-posta: seyda_ignak@hotmail.com

pek çok *Legionella* türünün özellikle transplantasyon hastaları gibi bağışıklığı düşük kişilerde nozokomiyal pnömoni salgınlarına neden olduğu bildirilmiştir⁽³⁾.

Legionella türleri akuatik, saprofit mikroorganizmalardır. Doğal sularda, toprakta ve çevrede yaygın olarak bulunan türler şebeke suyuna geçebilir ve insan yapımı sistemlerde (su dağıtım sistemleri, oda nemlendiricileri, soğutma kuleleri) suyun durgun olduğu alanlarda uygun ortam bularak çoğalırlar. Hastanelerde, özellikle bağışıklığı düşük bireylerin bulunduğu ortamlarda kontamine suların kullanılması ve aerosolların solunum yoluyla alınmasıyla ciddi enfeksiyonlar gelişebilmektedir. Bu nedenle hastane ortamlarında bu bakterilerin bulunması ciddi bir risk oluşturmaktadır. Birçok ülkede *Legionella* kaynaklı nozokomiyal salgınlar bildirilmiştir^(1,4-6).

Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi'nin değişik servislerinde bulunan duş başlığı ve musluklardan ve hastanenin merkezi depolarından olmak üzere toplam 100 su örneği alınmış ve *Legionella* türleri yönünden incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapılan bu çalışmada, Eylül 2006-Şubat 2007 tarihleri arasında duş başlığı sürüntüsü ve su örneği, musluk sürüntüsü ve su örneği, merkezi depolardan depo suyu örneği olmak üzere toplam 100 örnek alınmış ve *Legionella* yönünden incelenmiştir. Hastane su sisteminin tamamını temsil etmesi için değişik ana depoların beslediği binalardan örnekler alınmıştır. Göğüs hastalıkları, çocuk sağlığı ve hastalıkları ve genel cerrahi servisleri, transplantasyon ve yanık üniteleri ve yoğun bakımlar gibi nozokomiyal lejyonelloz açısından riskli hastaların bulunduğu birimler başta olmak üzere toplam 15 farklı birimden su örnekleri toplanmıştır.

Örneklerin alınması: Duş başlıkları ve muslukların içinden steril eküvyon ile sürüntü örnekleri alınmıştır. Sürüntü örnekleri alınan tüm duş ve musluklardan bir litre su örneği toplanmış ve örneklerin pH metre cihazı ile pH'sı, serbest klor ölçüm kiti (Ateks kimya, İstanbul) ile klor değerleri ölçülmüştür. Sürüntü örneğinin alındığı eküvyon 10ml orijinal su örneği içeren tüpe konulmuş ve tüp 30 saniye süre ile üç kez vor-

teksle karıştırılarak balondaki bir litrelik orijinal su örneğine ilave edilmiştir^(7,8). Sudaki kloru nötralize etmek için bir litre su örneğine 200mg sodyum tiyo-sülfat eklenmiştir⁽⁹⁾.

Örneklerin Hazırlanması: Toplanan su örnekleri vakum cihazına bağlı cam su filtrasyon düzeneğinden 0,45µm por çaplı selüloz membran filtre kağıtları (Sartorius, Almanya) kullanılarak süzülmuş ve sularda az sayıda bulunabilen *Legionella* bakterilerinin yoğunlaştırılması hedeflenmiştir. Filtrasyon işlemi sonrası filtre kağıtları steril şartlarda küçük parçalara ayrılmış ve 10ml orijinal su örneği içeren tüplere konularak, üç kez 30'ar saniye vorteksle karıştırılmıştır^(8,10). Vorteks ile karıştırılmış filtre kağıdı içeren tüpten alınan 1ml su örneği, *Legionella* dışı bakterilerin öldürülmesi amacıyla 9ml asit çözeltisiyle (0,2 M HCL-KCl, pH 2,2) karıştırılmış ve oda sıcaklığında beş dakika bekletildikten sonra karışımdan alınan 1ml'ye 9ml fosfat tampon (pH:7,2) eklenerek nötralize edilmiştir⁽¹¹⁾.

Kültür ve tanımlama: Nötr hale getirilmiş örneklerden 1ml alınarak glisin, vankomisin, polimiksin B ve sikloheksimid (Oxoid SR0152) içeren selektif *Legionella* besiyerine (Oxoid CYE Agar [CM 655] içine Oxoid SR0110C supplement eklenerek elde edilen agar; Oxoid, İngiltere) ekilmiştir. Ekim yapılan besiyerleri CO₂'li etüvde 35°C'de 15 gün inkübe edilmiştir. Kültürler 48 saatlik inkübasyonun ardından her gün incelenmiş, görülen koloniler Gram yöntemiyle boyanmıştır. Gram negatif çomak morfolojisi gösteren bakteri kolonilerden "buffered charcoal yeast extract agar" (BCYE; Oxoid, İngiltere) ve kanlı agar besiyerine ekim yapılmıştır. Kanlı agar besiyerinde üremeyip BCYE agar besiyerinde üreyen bakteri kolonileri yine BCYE agar besiyerine pasajlanarak saf kültürleri elde edilmiştir. Tür ve serogrup düzeyinde tanımlama için oksidaz, katalaz, hippurat hidrolizi gibi biyokimyasal testlerin yanı sıra lateks aglütinasyon (Oxoid, İngiltere) ve direkt floresan antikor (Trinity Biotech, MarDx, İrlanda) testleri de uygulanmıştır. Pozitif kontrol için *L. pneumophila* ATCC 33152 (Pasteur Enstitüsü, Fransa) izolatu kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp

Fakültesi Hastanesi su sistemlerinden alınan 100 (92 duş başlığı ve musluk suyu örneği, sekiz depo suyu) su örneği *Legionella* türleri yönünden incelenmiştir. Duş başlığı ve musluk sürüntü ve su örneklerinin altısında (üç *L. pneumophila* serogrup 1, üç *Legionella* spp.) ve sekiz depo suyunun birinde (*Legionella* spp.) olmak üzere toplam yedi *Legionella* suşu izole edilmiş ve su sistemlerinde *Legionella* spp. kolonizasyon oranı %7 olarak belirlenmiştir. Özellikle çocuk sağlığı ve hastalıkları anabilim dalı servislerinden alınan 17 su örneği değerlendirildiğinde; iki duş başlığı ve bir musluk suyunda olmak üzere üç *L. pneumophila* serogrup 1, yine aynı birimdeki bir duş başlığı ve bir musluk suyunda da *Legionella* spp. olmak üzere toplam beş *Legionella* suşu saptanması dikkat çekici bulunmuştur. Ayrıca, anesteziyoloji ve reanimasyon anabilim dalı servisinden alınan bir musluk suyu örneğinde *Legionella* spp. saptanmıştır. Üreme görülen su deposunun beslediği klinik birimlerde ise *Legionella* üremesi gözlenmemiştir.

İzole edilen yedi *Legionella* suşunun GVPC agardaki üreme süresinin beş ile sekiz gün arasında olduğu belirlenmiştir. Çalışma süresince ekim yapılan bazı besiyerlerinde yoğun olarak küf mantarlarının, gram negatif çomak ve *Bacillus* cinsinden bakterilerin ürettiği tespit edilmiştir. Besiyerinin tamamını kaplar tarzda bir üreme görüldüğünde örnek çalışmadan çıkarılmış ve yeni örnek alınarak deneyler tekrarlanmıştır.

Su örneklerinin pH değerlerinin 6,5-7,6 arasında; serbest klor miktarının ise $\leq 0,3-0,5$ ppm arasında değiştiği gözlenmiştir. *Legionella* spp. izole edilen su örneklerinin pH'sının 6,77-7,25 arasında değiştiği, serbest klor değerlerinin ise $\leq 0,3$ ppm düzeyinde olduğu saptanmıştır. Üreme görülen ve görülmeyen su örneklerinin pH ve serbest klor değerleri arasında, Kolmogorov-Smirnov testi ile istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki kurulamamıştır.

TARTIŞMA

Legionella türleri özellikle bağımsızlığı baskılanmış hastalarda hastane kaynaklı pnömonilerin önemli bir nedenidir. Hastane sularının *Legionella* açısından kültürünün yapılması hastane kaynaklı Lejyoner hastalığının risk değerlendirmesinin ilk adımıdır ve Fransa, Danimarka, Almanya, Hollanda, İspanya,

İtalya, Norveç, Portekiz, İsviçre ve daha pek çok bölgesel kaynaklı kılavuzda önerilmektedir⁽¹²⁾. Kool ve ark.⁽⁵⁾ idrarda antijen aranması gibi hızlı tanı testlerinin kullanılmaya başlanmasının ardından, bildirilen nozokomiyal enfeksiyon olgu sayısının artışına dikkat çekmiştir. Su sistemlerinde *Legionella* türlerinin belirlendiği durumlarda herhangi bir hastane enfeksiyonu olgusunun bildirilmemesini ise hastalığın çok bilinmemesi ve tanı testlerinin gerektiği gibi kullanılmamasına bağlı olabileceğini belirtmiştir.

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 2004 yılında görülen bir salgın üzerine yapılan çalışmada, hastanenin değişik bölümlerinden alınan 22 su örneğinin 15'inde *L. pneumophila* izole edilmiştir. "Pulse field gel electrophoresis" (PFGE) yöntemi ile sonuçlar değerlendirildiğinde çevreden izole edilen tüm suşların klinik örneklerden izole edilenlerle aynı olduğu saptanmıştır⁽⁴⁾. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda 1997'de yapılan bir tez çalışmasında atipik pnömoni tanısı konulmuş 83 hastanın 11'inde (%13,2) lejyonelloz saptanmıştır⁽¹³⁾. Aynı fakültede 1999 yılında yapılan diğer bir çalışmada ise, su sistemlerinde *Legionella* spp. izolasyon oranı %6 olarak belirlenmiştir⁽¹⁴⁾. Her iki çalışmadan izole edilen suşların genetik açıdan benzerliklerine yönelik bir çalışma yapılmamış, ancak su sistemlerinde *Legionella* türlerinin varlığının muhtemel nozokomiyal lejyonelloz olguları ile ilişkisine dikkat çekilmiştir.

Nakipoğlu ve ark.'nın⁽¹⁴⁾ çalışmasının ardından üreme saptanan noktaların mekanik temizliğinin yapılması, dezenfeksiyon amacı ile hiperklorlama ve sistemlerdeki su sıcaklığının kısa aralıklarla $>65^{\circ}\text{C}$ 'in üzerine çıkarılması uygulamaları önerilmiştir. Dezenfeksiyon işlemlerinden sonra yapılan kültürlerde *Legionella* türlerine rastlanmamış ve eradikasyonun sağlandığı gözlenmiştir. Çalışmamızda ise aynı su sistemlerinde *Legionella* izolasyon oranı %7 olarak saptanmış ve üreme saptanan su depolarının birinin Nakipoğlu ve ark.'nın⁽¹⁴⁾ çalışmasıyla ortak olduğu belirlenmiştir.

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi, çalışmanın yapıldığı dönemde 1425 yatak sayısına sahip oldukça eski bir hastanedir. Su sisteminin bazı kısımlarının arızalar sonrası PVC borularla değiştirildiği, ancak sistemin büyük bölümünün eski olduğu

ve demir borulardan oluştuğu gözlenmiştir. Demir su sistemlerinde *Legionella* kolonizasyon oranının diğer sistemlere göre daha yüksek olduğunu belirten çalışmalar olduğu bilinmektedir ⁽¹⁵⁾. Çalışmamızda da *Legionella* bakterilerinin izole edildiği tüm noktaların eski demir su borularından oluştuğu gözlenmiştir. Özellikle su sistemleri eski hastanelerdeki *Legionella* kolonizasyonunun önlenmesi için sistemlerin rutin bakımı ve çevre kültür sonuçlarına göre uygulanacak dezenfeksiyon uygulamalarıyla sistemlerin sürekli takibini öneren çalışmalar bulunmaktadır ^(16,17).

Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda, Köksal ve ark. ⁽¹⁸⁾ İstanbul'da üç eğitim hastanesinden aldıkları toplam 13 depo suyunun hiçbirinde *Legionella* türü saptanmazken, 48 musluk suyu örneğinin dördünde (üç *Legionella pneumophila* serogrup 1, bir *Legionella* spp.) *Legionella* bakterisi izole edildiğini bildirmiştir. Erandaç ve ark.'nın ⁽¹⁹⁾ çalışmasında ise, Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nin musluk ve duşlarından alınan 93 su örneğinin hiçbirinde *Legionella* türü saptanmamıştır.

Avusturya'daki çeşitli hastanelerden toplanan 210 su örneğinin 72'sinde (%34), İspanya'da 20 hastaneden toplanan 196 su örneğinin 73'ünde (%37,2), Fransa'da bulunan 10 hastaneden alınan 106 su örneğinin 67'sinde (%63,2), Yunanistan'daki 13 hastaneden alınan 130 su örneğinin 22'sinde (%17) *Legionella* türü bakterilerin izole edildiği bildirilmiştir ⁽²⁰⁻²³⁾. Tayvan'da yapılan bir çalışmada 16 hastanenin 10'unda (%63) *Legionella* spp., Danimarka'da yapılan diğer bir çalışmada ise 35 farklı su sisteminin 34'ünde (%97) *L. pneumophila* izole edildiği bildirilmiştir ^(12,24).

Dünyanın farklı yerlerinde yapılmış çalışmalarla karşılaştırıldığında, Türkiye'de çevre örneklerinden izole edilen *Legionella* bakterisi oranlarının diğer ülkelere kıyasla düşük olduğu görülmektedir. Çalışmamızda da izolasyon oranı %7 olarak belirlenmiştir. Düşük izolasyonun yöntemden ve çevre koşullarından kaynaklanabilecek çeşitli nedenleri olabilir. Çalışmamızda kısıtlı bütçe nedeniyle yalnızca selektif besiyeri kullanılmış, örneklerin BCYE agar gibi selektif olmayan bir besiyerine direkt ekimi yapılmamıştır. Selektif besiyerlerinin, özellikle küf mantarları olmak üzere sudaki mikrofloranın üremesini önemli ölçüde baskılaması nedeniyle soğutma kule-

leri gibi küf kontaminasyonuna açık su örneklerinde kullanımı idealdir. Ancak, inhibitörlü herhangi bir besiyeri florayı baskılamak için *Legionella* türleri üzerine de baskılayıcı olabildiğinden düşük izolasyona neden olabilir ve kısıtlı bütçe nedeniyle selektif olmayan bir besiyerinin kullanılmaması bu çalışmanın eksikliğidir. Öte yandan dekontaminasyon amacıyla yapılan asit ile muamele işleminin *Legionella* izolasyon oranlarını düşürmesi de söz konusudur ⁽¹¹⁾. Çalışmamızda dekontaminasyon aşaması 5 dk. ile sınırlandırılarak bu sorunun önüne geçilmeye çalışılmıştır. Ülkemizdeki düşük *Legionella* izolasyon oranlarını, çalışmamızda olduğu gibi seçilen protokollerle de ilişkilendirmenin mümkün olduğu düşünülebilir.

Çevre su örneklerinde *Legionella* türlerinin kolonizasyon oranlarının mevsimsel farklılık gösterdiği, yaz ve sonbahar mevsimlerinde oranların kış ve ilkbahara göre daha yüksek olduğu bilinmektedir ⁽²⁵⁾. Çalışmamızda ise örnekler eylül-şubat ayları arasında toplanmıştır ve çalışmamızın yapıldığı dönemde düşük izolasyon oranları ile de ilişkilendirilebilir.

Sonuç olarak, *Legionella* türlerinin su sistemlerinde çoğalarak insan sağlığı açısından önemli bir risk faktörü oluşturduğu göz önünde bulundurulduğunda, bu ve bunun gibi araştırmaların gerek su sistemlerinin dezenfeksiyonu ve temizliğinin önemi, gerek ise Lejyoner hastalığının tanısının atlanmaması konusunda ilgili meslek gruplarında farkındalık yaratabilmesi açısından önemlidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje No: T-855/02062006.)

KAYNAKLAR

1. Winn WC, Koneman EW, Stephen DA, et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
2. Carratalà J, Garcia-Vidal C. An update on *Legionella*. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23:152-7. <http://dx.doi.org/10.1097/QCO.0b013e328336835b> PMID:20051846
3. Knirsch AC, Jakob K, Schoonmaker D, et al. An outbreak of *Legionella micdadei* pneumonia in transplant patients: evaluation, molecular epidemiology and control. *Am J Med* 2000; 108:290-5. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9343\(99\)00459-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9343(99)00459-3)
4. Ozerol IH, Bayraktar M, Cizmeci Z, et al. Legionnaire's

- disease: a nosocomial outbreak in Turkey. *J Hosp Infect* 2006; 62:50-7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2005.04.018>
 PMID:16198023
5. **Kool JL, Bergmire-Sweet D, Butler JC, et al.** Hospital characteristics associated with colonization of water systems by *Legionella* and risk of nosocomial legionnaires' disease: a cohort study of 15 hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20:798-805.
<http://dx.doi.org/10.1086/501587>
 PMID:10614602
 6. **Trop Skaza A, Beskovnik L, Storman A, Kese D, Ursic S.** Epidemiological investigation of a legionellosis outbreak in a Slovenian nursing home, August 2010. *Scand J Infect Dis* 2012; 44:263-9.
<http://dx.doi.org/10.3109/00365548.2011.635313>
 PMID:22339541
 7. **Leoni E, Legnani PP.** Comparison of selective procedures for isolation and enumeration of *Legionella* species from hot water systems. *J Appl Microbiol* 2001; 90:27-33.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01178.x>
 PMID:11155119
 8. **Ta AC, Stout JE, Yu VL, Wagener MM.** Comparison of culture methods monitoring *Legionella* species in hospital potable water systems and recommendations for standardization of such methods. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2118-23.
 PMID:7559959 PMCID:228346
 9. **Wiedenmann A, Langhammer W, Botzenhart K.** A case report of false negative *Legionella* test results in chlorinated public hot water distribution system due to lack of sodium thiosulfate in sampling bottles. *Int J Hyg Environ Health* 2001; 204:245-9.
<http://dx.doi.org/10.1078/1438-4639-00101>
 PMID:11833297
 10. **Bartie C, Venter SN, Nel LH.** Identification methods for *Legionella* from environmental samples. *Water Res* 2003; 37:1362-70.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00220-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00220-8)
 11. **Bopp CA, Sumner JW, Morris GK, Wells JG.** Isolation of *Legionella* spp. from environmental water samples by low-pH treatment and use of a selective medium. *J Clin Microbiol* 13:714-9.
 PMID:7229015 PMCID:273865
 12. **Yu PY, Lin YE, Lin WR, et al.** The high prevalence of *Legionella pneumophila* contamination in hospital potable water systems in Taiwan: implications for hospital infection control in Asia. *Int J Infect Dis* 2008; 12:416-20.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2007.11.008>
 PMID:18243750
 13. **Babaoglu G, Aydın D, Arseven O, Berkiten R.** Atipik pnömoni olgularında *Legionella pneumophila*'nın direkt ve indirekt mikrobiyolojik yöntemlerle araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; 33:35-8.
 14. **Nakipoğlu Y, Gürler B.** İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesinde kullanılan sularda *Legionella* cinsi bakterilerin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2000; 30:97-104.
 15. **Pongratz A, Schwarzkopf A, Hahn H, et al.** The effect of the pipe material of the drinking water system on the frequency of *Legionella* in a hospital. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1994; 195(5-6):483-8.
 PMID:7916876
 16. **Lin YE, Stout JE, Yu VL.** Prevention of hospital-acquired legionellosis. *Curr Opin Infect Dis* 2011; 24:350-6.
<http://dx.doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283486c6e>
 PMID:21666459
 17. **Cristino S, Legnani PP, Leoni E.** Plan for the control of *Legionella* infections in longterm care facilities: role of environmental monitoring. *Int J Hyg Environ Health* 2012; 215:279-85.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.08.007>
 PMID:21925948
 18. **Köksal F, Oğuzkurt N, Samastı M.** İstanbul'da üç eğitim hastanesinin depo ve musluk sularında *Legionella* bakterilerinin araştırılması. *Klinik Derg* 2002; 18:16-8.
 19. **Erandaç M, Elaldı N.** Hastane musluk ve duş sularında *Legionella* cinsi bakterilerin araştırılması. *C.Ü. Tıp Fakültesi Derg* 2001; 23:81-3.
 20. **Reinthal FF, Sattler J, Schaffler-Dullnig K, Weinmayr B, Marth E.** Comparative study of procedures for isolation and cultivation of *Legionella pneumophila* from tap water in hospitals. *J Clin Microbiol* 1993; 31:1213-6.
 PMID:8501221 PMCID:262906
 21. **Sabrià M, Módol JM, Garcia-Nu- ez M, et al.** Environmental cultures and hospital-acquired Legionnaires' disease: a 5 year prospective study in 20 hospitals in Catalonia, Spain. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25:1072-6.
<http://dx.doi.org/10.1086/502346>
 PMID:15636295
 22. **Lasheras A, Boulestreau H, Rogues AM, Ohayon-Courtes C, Labadie JC, Gachie JP.** Influence of amoebae and physical and chemical characteristics of water on presence and proliferation of *Legionella* species in hospital water system. *Am J Infect Control* 2006; 34:520-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2006.03.007>
 PMID:17015158
 23. **Mavridou A, Smeti E, Mandilara G, et al.** Prevalence study of *Legionella* spp. contamination in Greek hospitals. *Int J Environ Health Res* 2008; 18:295-304.
<http://dx.doi.org/10.1080/09603120801966035>
 PMID:18668417
 24. **Asbjorn J, Andersen HK.** *Legionella pneumophila* in the hot water system of Danish hospitals and institutions. A questionnaire study and a random sample test. *Ugeskr Laeger* 1995; 157:586-90.
 PMID:7638914
 25. **Bercovier H, Fattal B, Shuval H.** Seasonal distribution of *Legionellae* isolated from various types of water in Israel. *Isr J Med Sci* 1986; 22:644-6.
 PMID:3793447