

BURSA'DA İÇME MAKSATLI KULLANILAN ARTEZYEN KUYU SULARINDA SALMONELLA VE SHİGELLA VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Figen Çetinkaya¹

Recep Çıbık¹

Ece Soyutemiz¹

Investigation of the Presence of *Salmonella* and *Shigella* in Artesian Well Waters Used for Drinking in Bursa

Özet: Çalışma, Bursa'da çeşitli semtlerden ve köylerden sağlanan ve içme maksatlı kullanılan artezyen kuyu suyu örneklerinde *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin varlığını araştırmak amacıyla gerçekleştirildi. Bu amaçla, toplam 30 adet su örneği FDA (The US Food and Drug Administration) tarafından önerilen izolasyon metodlarından yararlanılarak, söz konusu patojenler yönünden analiz edildi. İncelenen örneklerin hiçbirisinde *Salmonella* ve *Shigella* bakterileri izole edilmedi.

Anahtar Kelimeler: Su Kaynaklı Patojenler, *Salmonella*, *Shigella*

Abstract: The study was performed to investigate the presence of *Salmonella* and *Shigella* species in artesian well water samples collected from several neighbourhoods and villages in Bursa and used as drinking water. For this purpose, a total of 30 water samples were analysed for these pathogens by using the isolation method described by FDA (The US Food and Drug Administration). Neither *Salmonella* nor *Shigella* was isolated from any of the analysed samples.

Key Words: Waterborne pathogens, *Salmonella*, *Shigella*

Giriş

Basiller dizanteri olarak da bilinen shigellosis, *Shigella* bakterileri tarafından oluşturulan infeksiyöz bir hastalıktır. *Shigella* cinsi içerisinde yer alan *S. dysenteriae*, *S. boydii*, *S. sonnei* ve *S. flexneri* türlerinin tümü insanlar için patojendir (Theron ve ark., 2001) ve düşük infeksiyöz doz (~10 hücre) sahip olmaları nedeniyle, büyük salgınlar oluşturma potansiyeline sahiptir (Wu ve ark., 2000). İnfeksiyon başlıca fekal-oral yolla kişiden kişiye ya da kontamine gıdaların ve suların tüketimiyle bulaşmaktadır (Lichnevski, 1996). Gıdaların kontaminasyonunda, zayıf personel hijyeninin söz konusu olduğu gıda işleyicileri önemli rol oynamaktadır (Lampel ve Maurelli, 2002). Bundan dolayı, shigellosisin insidensi güvensiz veya yetersiz su kaynaklarının ve yetersiz sanitasyonun söz konusu olduğu yoğun nüfuslu bölgelerde en yüksek seviyededir (Lichnevski, 1996).

Salmonella cinsi, tüm dünyada gıda kaynaklı bakteriyel salgınlar ve hastalıkların en önemli se-

beplerinden birisidir (Gouws ve ark., 1998). *Salmonella*'ların Amerika'da her yıl 1.4 milyon gıda kaynaklı hastalık vakasına ve 500'ün üzerinde kişinin ölümüne neden olduğu rapor edilmiştir (CDC). Neden oldukları infeksiyonlar, dünyanın pek çok kesiminde olduğu gibi ülkemizde de halk sağlığı açısından önem taşımaktadır (Erdem ve ark., 2005). *Salmonella* türleri çeşitli yollarla insanlara bulaşabilmektedir, ancak infeksiyonların çoğu özellikle hayvansal kaynaklı kontamine gıdaların tüketiminden kaynaklanmaktadır (Hernandez ve ark., 2005; Tavechio ve ark., 2002).

Yaşamın vazgeçilmez bir unsuru olan su, içerisinde bulunabilen mikroorganizmalar, toksik kimyasal maddeler ve diğer zararlı etkenler ile yaşamı tehdit edebilmekte, hastalıklara hatta ölümlere yol açabilmektedir. İnsan sağlığı ile direkt ilgili olan suyun patojen mikroorganizmalar ile kirlenmesi, ölümlere yol açabilen salgın hastalıkların başlıca sebebidir (Tosun, 2005). Tablo 1'de görüldüğü gibi, su kaynaklı önemli patojenler, bakterileri (patojenik *Escherichia coli* suşları, *Campylobacter* ve *Sal-*

monella spp. gibi), protozoaları (*Cryptosporidium parvum* ve *Giardia lamblia* gibi) ve virüsleri (adenovirüsler, enterovirüsler ve rotavirüsler gibi) içermektedir (Azanza ve Cornago, 2005; Gadgil, 1998).

Fekal-oral yol ile nakledilebilen hemen hemen tüm enterik patojenler, su ile insanlara bulaşabilmektedir (Ford, 1999). Kontamine suyun tüketimiyle ortaya çıkan *Salmonella* (Schuster ve ark., 2005; Swaddiwudhipong ve Kanlayanaphotporn, 2001) ve *Shigella* (Arias ve ark., 2006; CDC, 1996) salgınları rapor edilmiştir. Ülkemizde gerçekleştirilen epidemiyolojik bir çalışmada, Ceylan ve ark. (2003) 25 Aralık 2001-4 Ocak 2002 tarihleri arasında Diyarbakır'da (Ergani, Ahmetli köyü) kontamine içme suyundan kaynaklanan bir tifoid feber salgınına rapor etmişlerdir. Araştırmacılar hastaların kan ve dışkı kültürlerinden *S. Typhi*'nin izole edildiğini ve köy içme suyunun kanalizasyon yoluyla kontamine edildiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışma, Bursa'da çeşitli semtlerden ve köylerden elde edilen artezyen kuyu sularında *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin varlığını belirlemek amacıyla gerçekleştirildi.

Materyal ve Metot

Çalışmada, Şubat 2005-Mart 2005 tarihleri arasında Bursa'daki çeşitli semtlerden ve köylerden elde edilen ve halkın içme amacıyla kullandığı 30 farklı artezyen kuyu suyu örneği, 200 cc'lik steril şişeler içerisine alındı ve soğuk zincir altında laboratuvara getirilen örneklerin aynı gün bakteriyolojik analizi gerçekleştirildi.

Salmonella izolasyonu için, FDA (The US Food and Drug Administration) tarafından önerilen izolasyon ve identifikasyon metodundan yararlanıldı (Andrews ve Hammack, 1998). 25 ml su örneği 225 ml Lactose broth içerisine ilave edildi ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Bu ön zenginleştirme kültüründen 1 ml alınarak zenginleştirme amacıyla 10 ml Tetrathionate (TT) broth (Oxoid, CM0029) içeren tüplere inokule edildi ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. TT broth'da gelişen bakterilerin Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar (Oxoid, CM0469) ve MacConkey agar (Oxoid, CM0007) plaklarına ekimleri gerçekleştirildi. 37°C'de bir gece inkübasyonu takiben, plaklar tipik *Salmonella* kolonilerinin varlığı bakımından incelendi. XLD agar üzerinde siyah merkezli veya merkezsiz pembe koloniler ile MacConkey agar

Tablo 1. İçme suyu ile nakledilebilen patojenler

Patojen	Sağlık açısından önemi	Nispi infeksiyöz dozu
BAKTERİLER		
<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>C. coli</i>	Yüksek	Orta
Patojenik <i>Escherichia coli</i>	Yüksek	
<i>Salmonella Typhi</i>	Yüksek	Yüksek ^c
Diğer <i>Salmonella</i>	Yüksek	Yüksek
<i>Shigella</i> spp.	Yüksek	Orta
<i>Vibrio cholerae</i>	Yüksek	Orta
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Yüksek	Yüksek (?)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Orta	Yüksek (?)
<i>Aeromonas</i> spp.	Orta	Yüksek (?)
VİRUSLAR		
Adenovirüsler	Yüksek	Düşük
Enterovirüsler	Yüksek	Düşük
Hepatitis A	Yüksek	Düşük
Norwalk virüsü	Yüksek	Düşük
Rotavirüs	Yüksek	Orta
PROTOZOALAR		
<i>Entamoeba histolytica</i>	Yüksek	Düşük
<i>Giardia intestinalis</i>	Yüksek	Düşük
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Yüksek	Düşük
HELMİNTLER		
<i>Dracunculus medinensis</i>	Yüksek	Düşük

c: Gönüllü insanlarla denemelerin sonuçları

?: Bilinmiyor veya net değil

plaklarındaki renksiz koloniler standart biyokimyasal testlere (TSI, LIA, hareket, H₂S, üre, indol, lizin dekarboksilaz, metil-red, sitrat) tabi tutuldu. Bu testler ile şüpheli pozitif sonuçların alındığı izolatlarla, daha sonra Poly O (Denka Seiken, Tokyo, Japan) ve Poly H antiserumlarıyla aglutinasyon testleri uygulandı.

Örneklerde *Shigella* türlerinin varlığını belirlemek amacıyla, FDA tarafından önerilen geleneksel kültür metodundan yararlanıldı (Andrews ve Jacobson, 2000). Bu amaçla, 25 ml su örneği novobiocin (Sigma) katkılı (*S. sonnei* için 0.5 µg/ml, diğer *Shigella* türleri için 3.0 µg/ml) *Shigella* broth'un 225 ml'sine ilave edildi ve daha sonra anaerob koşullar altında *S. sonnei* ve diğer *Shigella* türleri için sırasıyla 44°C ve 42°C'de 20 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyonları takiben, zenginleştirme kültürlerinin her birinden ayrı ayrı olmak üzere, bir öze dolusu kültür MacConkey (Oxoid, CM0007) ve *Salmonella-Shigella* (SS) agar (Oxoid, CM0099) plaklarına ekilerek 37°C'de 20 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Plaklar tipik *Shigella* kolonilerinin (MacConkey agar yüzeyinde pembeimsi ve yarı şeffaf, SS agar üzerinde renksiz) varlığı yönünden değerlendirilerek, şüpheli kolonilere standart biyokimyasal testler (TSI, hareket, H₂S, glukoz (gaz), üre, indol, ONPG, lizin dekarboksilaz, sitrat) uygulandı.

Bulgular

Çalışmada incelenen içme suyu örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları, su örneklerinin iki önemli enterik patojen, *Salmonella* ve *Shigella* ile kontamine olmadığını ortaya koydu.

Tartışma ve Sonuç

Su kaynaklı infeksiyöz hastalıklar, hasta veya taşıyıcı durumundaki insan veya hayvanların dışkılarıyla su kaynaklarının kontamine olması sonucu nakledilebilmektedir. Böyle suların gerek içme ve gerekse pişirme amacıyla kullanımı, infeksiyonların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Gadgil, 1998). Su kaynaklarının tarımsal, endüstriyel ve belediyelere ait atıkları almaya devam etmesi, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde içme suyunun mikrobiyolojik güvenliği konusunda kaygı yaratmaktadır (Ford, 1999).

Çalışmada incelenen artezyen kuyu suyu örneklerinin hiçbirinden *Salmonella* ve *Shigella* izole edilmedi. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından düzenlenen "Türk Gıda Kodeksi, İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik"te de, içme su-

larının 100 ml'sinde *Salmonella* bulunmaması gerektiği belirtilmektedir (Anonymous, 2005).

İçme sularında *Salmonella* ve *Shigella* kontaminasyonunun belirlenmesine yönelik olarak gerçekleştirilen çeşitli araştırma raporları bulunmaktadır. Ho ve ark. (2003) su kaynaklarından toplanan 78 adet su örneğinden %75'inin *Salmonella* spp., *Aeromonas* spp., *Vibrio* sp. ve *Plesiomonas shigelloides* içerdiğini, musluk suyu örneklerinin ise hiçbirinde *Shigella* spp., *E.coli* 0157:H7, *Campylobacter* sp. kontaminasyonunun gözlenmediğini bildirmişlerdir. Khalil ve ark. (1994) tarafından yapılan bir araştırmanın sonuçları, 148 adet içme suyu örneğinin *Shigella* ve *Salmonella* ile kontamine olduğunu göstermiştir.

Grover ve Thakur (2001) 300 adet su örneğinin %1.25'inde *S. Typhi* kontaminasyonu gözlemişlerdir. Molinero ve ark. (1998) tarafından gerçekleştirilen epidemiyolojik bir çalışmada, *Salmonella* Ohio ile kontamine içme suyunun tüketimine bağlı 101 kişinin etkilendiği bir salgın dökümanite edilmiştir. Koutsotoli ve ark. (2006) Yunanistan'ın farklı bölgelerinde son 30 yılda görülen dört ayrı salgına, *S. sonnei* ile kontamine içme suyunun neden olduğunu bildirmişlerdir. Egoz ve ark. (1991) İsrail'de fekal kontaminasyona maruz kalmış içme suyundan kaynaklanan *S. sonnei*'nin 8000 vakalık bir salgını rapor etmişlerdir. Yine Chen ve ark. (2001) bir okul tuvaletinin lağımıyla kontamine olmuş kuyu suyunun neden olduğu ve 730 öğrencinin etkilendiği bir salgında, hastaların dışkı örneklerinden *Shigella sonnei* ve *Entamoeba histolytica*'nın izole edildiğini bildirmişlerdir.

Diğer taraftan Hasde ve ark. (2002) 28 kuyu suyu örneğinin hiçbirisinde *Salmonella* ve *Shigella* belirlemediklerini, Oo ve ark. (1991) ise çocuklar tarafından tüketilen 113 adet içme suyu örneğinin *Salmonella* içermediğini rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda analiz edilen artezyen kuyu suyu örneklerinde *Salmonella* ve *Shigella* kontaminasyonu gözlenmemiştir. Halkın içme ve kullanma maksatlı olarak yararlandığı bu sularda, bu iki önemli enterik patojenin belirlenmemesi, halk sağlığı açısından bir risk taşımadıklarını düşündürmekle birlikte daha geniş coğrafik alanda, daha fazla sayıda örnekle ve mevsimsel farklılıkların da göz önüne alınacağı yeni araştırmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

Andrews, W.H., Hammack, T.S. (1998). *Salmonella*. In: Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual. 8th Edition (Revision A), AOAC International,

Gaithersburg, MD.

Andrews, W.H., Jacobson, A. (2000). *Shigella*. In: Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual. 8th Edition (Revision A), AOAC International, Gaithersburg, MD.

Anonymous. (2005). Türk Gıda Kodeksi. İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik. Resmi Gazete, 17.02.2005, Sayı: 25730.

Arias, C., Sala, M.R., Dominguez, A., Bartolome, R., Benavente, A., Veciana, P., Pedrol, A., Hoyo, G. Outbreak Working Group. (2006). Waterborne Epidemic Outbreak of *Shigella sonnei* Gastroenteritis in Santa Maria de Palautordera, Catalonia Spain. *Epidemiol. Infect.*, 134, 598-604.

Azanza, M.P.V., Cornago, D.F. (2005). Estimation of Human Exposure to Bacterial Pathogens in Drinking Water of Philippine Passenger Ships. *Food Sci. Technol. Res.*, 11, 332-338.

CDC. Centers for Disease Control, Division of Bacterial and Mycotic Diseases. Salmonellosis, available at http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/salmonellosis_t.htm. Accessed March 29.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. (1996). *Shigella sonnei* Outbreak Associated with Contaminated Drinking Water-Island Park, Idaho, August 1995. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 45, 229-231.

Ceylan, A., Acemoglu, H., Hosoglu, S., Gul, K., Ilcin, E., Efe, M. (2003). Typhoid Fever Epidemic in Ahmetli Village, Diyarbakir-Ergani. *Mikrobiyol. Bul.*, 37, 41-47.

Chen, K.T., Chen, C.J., Chiu, J.P. (2001). A School Waterborne Outbreak Involving Both *Shigella sonnei* and *Entamoeba histolytica*. *J. Environ. Health.*, 64, 9-13.

Egoz, N., Shmilovitz, M., Kretzer, B. Lucian, M., Porat, V., Raz, R. (1991). An Outbreak of *Shigella sonnei* Infection Due to Contamination of a Municipal Water Supply in Northern Israel. *J. Infect.*, 22, 87-93.

Erdem, B., Ercis, S., Hascelik, G., Gur, D., Aysev, A.D. (2005). Antimicrobial Resistance of *Salmonella enterica* Group C Strains Isolated from Humans in Turkey, 2000-2002. *Int. J. Antimicrob. Ag.*, 26, 33-37.

Ford, T.E. (1999). Microbiological Safety of Drinking Water: United States and Global Perspectives. *Environ. Health Perspect.*, 107 (Suppl 1), 191-206.

81A. (1998). Drinking Water in Developing Countries. *Annu. Rev. Energy Environ.*, 23, 253-286.

Gouws, P.A., Visser, M., Brözel, V.S. (1998). A Polymerase Chain Reaction Procedure for the Detection of *Salmonella* sp. with 24 Hours. *J. Food Protect.*, 61, 1039-1042.

Grover, P.S., Thakur, K. (2001). Shima Drinking Water-A Bacteriological Analysis. *J. Commun. Dis.*, 33, 44-52.

Hasde, M., Oğur, R., Tekbaş, Ö.F. (2002). Ankara İl Merkezinde Bulunan Askeri Birliklerdeki Kuyu Sularının Polimeraz Zincir Reaksiyon Sistemi İle Mikrobiyolojik Analizlerinin Yapılması. *Gülhane Tıp Derg.*, 44, 373-377.

Hernandez, T., Sierra, A., Rodriguez-Alvarez, C., Torres, A., Arevalo, M.P., Calvo, M., Arias, A. (2005). *Salmonella enterica* Serotypes Isolated from Imported Frozen Chicken Meat in the Canary Islands. *J. Food Protect.*, 68, 2702-2706.

Ho, K.C., Chow, Y.L., Yau, J.T.S. (2003). Chemical and Microbiological Qualities of the East River (Dongjiang) Water, with Particular Reference to Drinking Water Supply in Hong Kong. *Chemosphere*, 52, 1441-1450.

Khalil, K., Lindblom, G.B., Mazhar, K., Kaijser, B. (1994). Flies and Water as Reservoirs for Bacterial Enteropathogens in Urban and Rural Areas in and Around Lahore, Pakistan. *Epidemiol. Infect.*, 113, 435-444.

Koutsotoli, A.D., Papassava, M.E., Maipa, V.E., Alamanos, Y.P. (2006). Comparing *Shigella* Waterborne Outbreaks in Four Different Areas in Greece: Common Features and Differences. *Epidemiol. Infect.*, 134, 157-162.

Lampel, K.A., Maurelli, A.T. (2002). *Shigella*. In "Foodborne Diseases", 2nd Edition, Eds., O.D. Cliver and H.P. Riemann, pp. 69-77, Academic Press, London.

Lichnevski, M. (1996). *Shigella dysentery* and *Shigella* Infections. *East. Mediterr. Health J.*, 2, 102-106.

Moliner, M.E., Fernandez, I., Garcia-Calabuig, M.A., Peiro, E. (1998). Investigation of a Water-Borne *Salmonella* Ohio Outbreak. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 16, 230-232.

Oo, K.N., Han, A.M., Hlaing, T., Aye, T. (1991). Bacteriologic Studies of Food and Water Consumed By Children in Myanmar: 1. The Nature of Contamination. *J. Diarrhoeal. Dis. Res.*, 9, 87-90.

Schuster, C.J., Ellis, A.G., Robertson, W.J., Charron, D.F., Aramini, J.J., Marshall, B.T., Medeiros, D.T. (2005). Infectious Disease Outbreaks Related to Drinking Water in Canada, 1974-2001. *Can. J. Public. Health.*, 96, 254-258.

Swaddiwudhipong, W., Kanlayanaphotporn, J. (2001). A Common-Source Water-Borne Outbreak of Multidrug-Resistant Typhoid Fever in a Rural Thai Community. *J. Med. Assoc. Thai.*, 84, 1513-1517.

Tavechio, A.T., Ghilardi, A.C.R., Peresi, J.T.M., Fuzihara, T.O., Yonamine, E.K., Jakabi, M., Fernandes, S.A. (2002). *Salmonella* Serotypes Isolated from Non-human Sources in São Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. *J. Food Protect.*, 65, 1041-1044.

Theron, J., Morar, D., Du Preez, M., Brözel, V.S., Venter, S.N. (2001). A Sensitive Seminested PCR Method for the Detection of *Shigella* in Spiked Environmental Water Samples. *Wat. Res.*, 35, 869-874.

Tosun, M. (2005). İçme ve Maden Suyu Sektör Araştırması. SA-05-01-01, Araştırma Müdürlüğü, Ankara, s. 3.

Wu, F.M., Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Wells, J.G., Mintz, E.D., Swaminathan, B. (2000). Fate of *Shigella sonnei* on Parsley and Methods of Disinfection. *J. Food Protect.*, 63, 568-572.