

## **Staphylococcus aureus'un üremesine karahayıt termal sularının in-vitro etkisi**

### *In-vitro effect of karahayıt thermal water on Staphylococcus aureus growth*

Nilay Çölbe\*, Havva Gürbüz\*, Nuran Kavurgacı\*, Seval Kısaoğlu\*, Çağrı Ergin\*\*, Şeniz Ergin\*\*\*

\*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Öğrenci, Özel Çalışma Modülü Programı, Denizli

\*\*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Denizli

\*\*\* Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar AD, Denizli

#### **Özet**

Denizli Karahayıt termal suları halk tarafından sağlık amaçlı kullanılan geleneksel kaplıcalardır. Bu çalışmada, sıvı buyyon besiyeri içeriğinde Karahayıt termal yer altı sularının kullanıldığı üç farklı besiyerinde üretilen iki *Staphylococcus aureus* kökeni (Atopik dermatitli bir hastanın lezyonundan izole edilen bir köken ve standart *S.aureus* ATCC 25925)'nin büyüme eğrileri, doğrusal olmayan eğri uyumu yöntemi ile analiz edilmişlerdir. Sonuç olarak, Karahayıt termal sularının *S.aureus* kökenlerine inhibitör etkisi saptanmamıştır.

*Pam Tıp Derg 2010;3(3):137-141*

**Anahtar sözcükler:** *Staphylococcus aureus*, atopik dermatit, termal su, Karahayıt

#### **Abstract**

Denizli-Karahayıt hot spring water is traditionally used on folk medicine. In this study, two *Staphylococcus aureus* growth curves (a strain isolated from atopic dermatitis lesions and standart *S.aureus* ATCC 25925) by three different Karahayıt thermal spring water as basal broth medium's ingredients are analyzed with non-linear curve fitting method. As a result, no inhibitory effect of Karahayıt thermal springs was observed on *S.aureus* strains.

*Pam Med J 2010;3(3):137-141*

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, atopic dermatitis, spa, Karahayıt

#### **Giriş**

Dünyada ve ülkemizde birçok bölgede kaplıcalar farklı hastalıkların tedavisinde yardımcı yöntem olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler XIX.yy.dan itibaren organize hale gelmiş, önce Avrupa'da sonra ABD'de önemli tedavi uygulamaları olarak yaygınlaşmaya başlamıştır. Kaplıca suları farklı inorganik ve organik bileşikler bulundurmaktadır ve "fiziko-kimyasal bir dinamizm" içindedir [1]. İçerdikleri bileşikler yanında sıcaklık ve bu bileşiklerin yoğunluğu özellikleriyle birbirlerinden farklıdır. Ülkemizde de çok sayıda kaplıca hem geleneksel uygulamalar hem de medikal beklentiler ile halkın kullanımındadır. Denizli'de de, hidrotermal karst üzerinde, Karahayıt, Buldan, Yenice ve Gölemezli gibi çok sayıda kaplıca bulunmaktadır [2].

Termal sular, dermatolojik şikayetleri bulunan kişiler tarafında sıklıkla kullanılmaktadır. Farklı sıcaklığa sahip kaplıca suları ve inorganik bileşiklerdeki yoğunluklar deriye doğrudan

temas etmektedir. Termal suların kimyasal, termal, mekanik ve immünolojik etkileri ile farklı dermatolojik hastalıklarda yardımcı yöntem olarak uygulama alanları vardır [1]. Bu hastalıklardan biri de atopik dermatit (AD) dir. AD patogenezi henüz tam olarak bilinmeyen, alevlenme ve iyileşme dönemleriyle seyreden, kronik, kaşıntılı, inflamatuvar bir deri hastalığıdır. Enfeksiyon etkenlerinin AD'i başlatabileceği ve alevlenmelere neden olabileceği ileri sürülmektedir. Genel popülasyonda %15-20 arasında görülen *S.aureus* kolonizasyonu AD'li hastaların %90'nının üzerinde kalıcı olarak görülmektedir [3-5]. Bu nedenle AD'li hastalarda *S.aureus* kolonizasyonu araştırılmakta, AD alevlenmelerinin önlenmesinde *S.aureus*'a karşı protokoller önerilmektedir. Termal su uygulamaları ile AD'li hastaların semptomları azaltılmaya çalışılmaktadır [1,3].

Termal suların mekanik etkileri yanında deri üzerinde kolonize olan *S.aureus* biyolojisi

Çağrı Ergin

Yazışma Adresi: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Denizli

e-mail: cagri@pau.edu.tr

Yazının dergiye gönderilme tarihi: 22.06.2010

Yazının basıma kabul tarihi: 23.08.2010

üzerine etkileri bilinmemektedir. *S.aureus* ile kolonize olarak termal kaplıcaya giren AD hastasında, su içindeki mineraller deriden absorbe olarak yoğunlaşabilmekte ve/veya su içindeki mineraller dezenfektan etki oluşturabilmektedir. Özellikle konağın immün mekanizmaları harekete geçebilmektedir [1,6]. Bu çalışmada; standart ve AD'li bir hastadan izole edilen bir *S.aureus* kökenlerinin, Karahayıt termal sularından hazırlanan besiyerlerinde üreyebilme yetenekleri araştırılmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Araştırmada *S.aureus* ATCC 25925 ve bir atopik dermatitli hastanın lezyonlu derisinden izole edilen *S.aureus* kökeni kullanıldı. Araştırmaya alınan kökenler %5 koyun kanlı agarda 24 saat süre ile çoğaltıldı. Karahayıt bölgesinde ana çıkış bölgesinden (Kaynak 1, Resim 1) ve yakın çevresinde bulunan turizm tesislerinde sondaj ile çıkartılan 2 farklı termal kaynakdan (Kaynak 2 ve 3) alınan sular araştırmaya alındı. Kontrol grubunda distile su kullanıldı. Çalışmada *S.aureus* kökenleri steril hale getirilen kaynak suları içinde 1 McFarland bulanıklığında hazırlandı.



**Resim 1.** Denizli-Karahayıt ana termal kaynak suyu halka açık havuz haline getirilmiştir (A). Ana kaynak yüksek sıcaklığa ve doymun mineral içeriğine sahiptir (B).

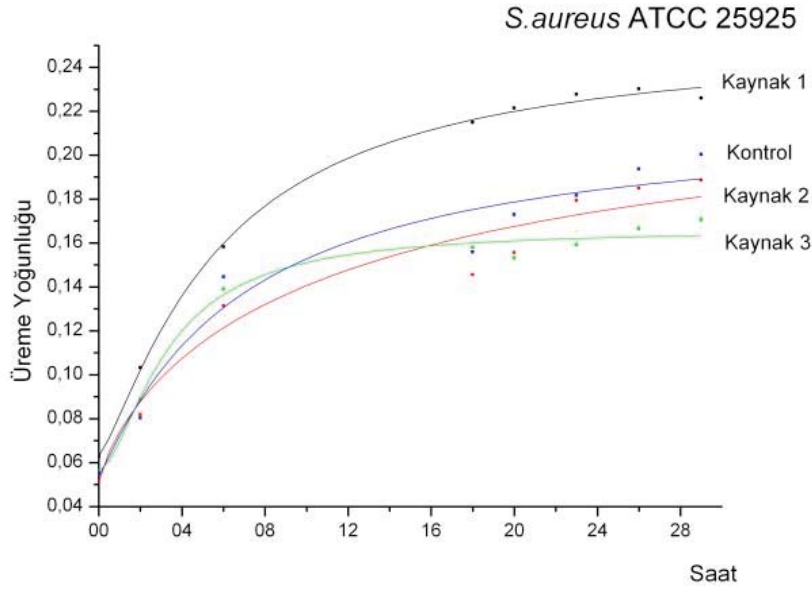
Araştırmada 10 gr/L et özeti, 20 g/L pepton, 17 g/L NaCl temel besiyeri olarak hazırlandı. Besiyerlerinin sulandırması Kaynak 1, 2, 3 ve distile su (kontrol) ile yapılarak farklı gruplar oluşturuldu. Hazırlanan besiyerleri otoklavda 121°C'da 15 dakika süreyle steril edildi. 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plağına steril pipet ile 150 µl hacimde araştırma yapılacak 4 grup besiyeri dağıtıldı. Kontrol (*S.aureus* ATCC 25925) ve test *S.aureus* kökenleri ayrı gruplar halinde 150 µl olarak kuyucuklara ilave edildi. Her grup için, kendi grup termal suyu içinde süspanse edilen bakteri kökeni kullanıldı. Mikrotitrasyon plağının üzeri kapatılarak nemli ortamda, 37°C'da inkübasyona bırakıldı. Araştırmanın 0, 2, 6, 18, 20, 23, 26 ve 29. saatlerinde oluşan bulanıklık ELISA okuyucuda (BioTek ELx808) 450 nm. filtre ile değerlendirildi. Elde edilen verilerin istatistik değerlendirmesi Origin 8.1 SR1 (OriginLab Corp., Northampton MA, ABD) programı ile yapıldı. Veriler Boltzmann sigmoidal büyüme eğri modeline uyarlandı. "Doğrusal olmayan eğri uyumu" analizinde hata payı %5 kabul edildi.

### Bulgular

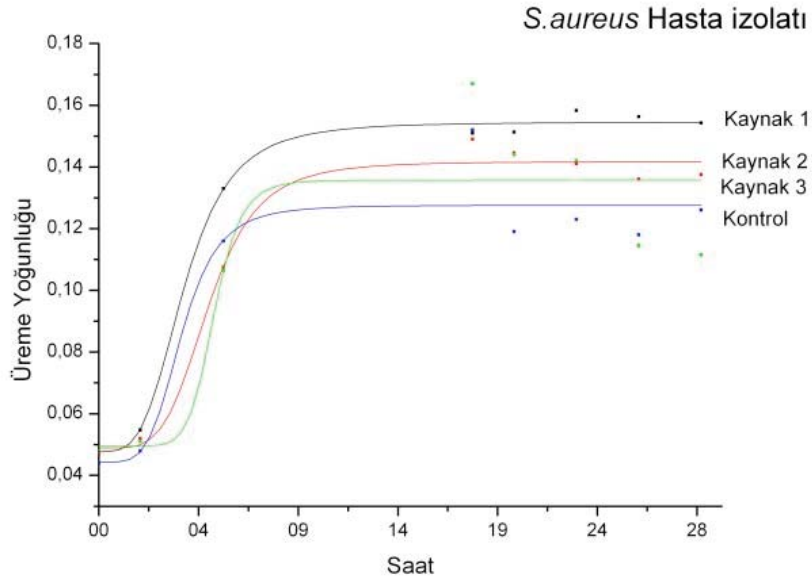
Araştırmaya alınan iki farklı *S.aureus* kökeninin (Kontrol-ATCC 25925 ve hasta kökeni) Boltzmann sigmoidal dönüşümü uygulanan üreme eğrileri Şekil 1 ve 2'de gösterilmektedir. Kaynak 1'den hazırlanan besiyerleri her iki *S.aureus* kökeni için de daha iyi üremeye neden oldu. Diğer kaynak sularından hazırlanan gruplarda, distile su ile hazırlanan gruptan farklı üreme eğrisi gözlenmedi. Standart ve hasta kökenlerinin test edilen ortamlarda gösterdikleri üreme eğrileri arasındaki benzerlik katsayıları 0,16'ın altında bulunmuştur (Tablo 1). Kaynak sularının *S.aureus* kökenlerinin çoğalmaları üzerine inhibitör etkileri saptanmamıştır.

### Tartışma

Sağlık sorunlarının tedavisi amacıyla kaplıcaların halk tarafından kullanımı tüm Dünya üzerinde yaygın bir uygulamadır. Antik Roma döneminde, MS 1352'de Roma'da halka açık 962 termal kaynağın olduğu bildirilmektedir. Bu uygulamalar XIX.yy.dan itibaren organize



**Şekil 1.** Standart *S.aureus* ATCC 25925 kökeninin farklı termal sular ve distile su (kontrol) ile hazırlanan besiyerlerinde üreme eğrileri.



**Şekil 2.** Bir atopik dermatitli hastanın kolonize olduğu lezyonundan izole edilen *S.aureus* kökeninin farklı termal sular ve distile su (kontrol) ile hazırlanan besiyerlerinde üreme eğrileri.

**Tablo 1.** Standart ve hastadan izole edilen *S.aureus* gruplarında, büyüme eğrilerinin grup içinde benzerlik katsayıları

Kaynak No	<i>S.aureus</i> ATCC 25925				Hasta Kökeni			
	1	2	3	Kontrol	1	2	3	Kontrol
1	-	0,158	0,142	0,082	-	0,14	0,027	0,032
2		-	0,03	0,013		-	0,004	0,008
3			-	0,010			-	0,001
Kontrol				-				-

hale gelmiş, önce Avrupa'da sonra ABD'de yaygınlaşmıştır. Günümüzde bu merkezlerde aynı zamanda mikrodermabrazyon, botulinum toksin ve kozmetoloji işlemleri, fotorejonevasyon gibi farklı medikal uygulamalarda yapılmaktadır. Özellikle dermatoloji alanında hastalıklar için medikal tedavi ile birlikte termal su tedavileri önerilebilmektedir. Bunlar arasında psoriasis, atopik dermatit, pruritus, liken ruber planus, rozasea, akne, seboreik dermatit ve iktiyozlar bulunmaktadır. Uzun süreli tedavi ihtiyacı olabilen benzer hastalıkların tedavisinde kaplıca sularında faydalanma girişimleri, beraberinde etik sorunları da birlikte getirmiştir. Kaynak sularının sıcaklıklarının, içeriklerinin ve mineral yoğunluklarının sürekli aynı kalmaması bu yöntemin destekleyici tıp yaklaşımı olabileceği görüşünü öne çıkarmaktadır. İsrail'de "Ölü Deniz", Türkiye'de "Sivas Kangal", İzlanda'da "Mavi Lagün" dermatolojik hastalıkların tedavisinde bilimsel olarak üzerinde araştırmalar yapılan merkezlerdir [1,7-10].

*Staphylococcus aureus*, AD'li hastaların lezyonlu ve lezyonsuz derilerinden sıklıkla izole edilir. AD'li hastalarda kontrollerden daha yüksek oranda bakteri izole edildiği ve *S.aureus* kolonizasyonu saptandığı bildirilmiştir [3,4,11,12]. AD'de *S.aureus* kolonizasyonuna yatkınlığının nedeni tam olarak bilinmemektedir. *S.aureus* hücre duvarı fibronektin, epidermal ve dermal laminin için adhezin adı verilen reseptörler içerir. AD'li hastalarda sağlam bir stratum korneumun olmaması dermal fibronektin reseptörlerinin açığa çıkmasına yol açarak *S.aureus* adezyonunu artırabilir [13]. Buna ek olarak deri pH'sının alkaliye kaymasının ve esansiyel yağ asitlerindeki bir defektin de bu yatkınlıkta rolü olabileceği düşünülmüştür [14].

Bunların yanı sıra halk arasında atopik dermatitli hastaların tedavi için termal havuzlara başvurması yaygındır. *S.aureus*'a karşı sıcak su banyosunun; bu bakterinin balneoterapi sırasında cilt yüzeyinde sayısının azalması veya tamamen kaybolması nedeniyle etki gösterdiği düşünülmektedir. Sıcak su banyosunun *S.aureus*'a karşı bakterisidal aktivitesi, asidik koşullar altında (pH 2-3) mangan ve iyot iyonlarının bir arada bulunması nedeniyle açığa çıkmaktadır. Mangan ve iyot iyonları içeren asidik dezenfektan olarak kullanılmaktadır. Inoue ve arkadaşları, Kusatsu sıcak su kaynağı (Japonya) kullanılarak yapılan balneoterapinin atopik dermatitin refrakter vakalarında, akut alevlenmelerinin kontrol edilmesi için yararlı olabileceğini bildirmişlerdir [1,15-17].

Denizli bölgesinde kaynak suları halk tarafından dermatolojik sorunlar nedeniyle kullanılmaktadır. Bölgede Kızıllağaç adıyla da bilinen Karahayıt (Resim 1) ile birlikte, Kaklık mağarası, Buldan ve Sarayköy kaplıcaları halkın kullanımına açıktır [18,19]. Sunulan araştırmada AD'li hastalarda kolaylıkla kolonize olabilen *S.aureus* kökenlerinin, Karahayıt termal sularından hazırlanan besiyeri ortamlarında büyüme yetenekleri araştırılmıştır. Şekil 1 ve 2'de görüldüğü gibi her iki deney grubunda da kökenlerin kendi aralarında bir gruplaşma bulunmamaktadır. Tablo 1'de belirtilen benzerlik katsayıları da gruplar arasında uyum bulunmadığı göstermektedir. Bu bölge sıcak sularında toplam iyon miktarı 2000-4000 mg/L arasındadır. Olağan klorürlü ( $rCl < 15$ ), oligosülfatlı ( $6 < rSO_4$ ), hiperkarbonatlı ( $rHCO_3 + rCO_3 > 7$ ) sınıfına girmektedir. Pamukkale, Karahayıt ve Gölemezli sıcak suları alkali toprak elementlerin (Ca+Mg) alkali elementlerden (Na+K) fazla olduğu, iyonların hiçbirinin %50'yi geçmediği karışık sulardır [2]. İncelemeye alınan 3 farklı kaynak suyu besiyerinde sıvı ortam olarak kullanılmış, suların doğal içeriğinin etkisi araştırılmıştır. Ancak atopik dermatitli hastaların su ortamı içinde karşılaşabilecekleri farklı fiziksel ortamlar (sıcaklık, pH vb) öngörülemediği için test edilememiştir. Kontrol olarak kullanılan distile suya göre Kaynak 1 suyundan yapılan besiyerinde üreme daha fazla görülmüş, diğer kaynaklardan yapılan besiyerlerinin üreme üzerine olumlu veya olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir. Bu durum, bu kaynak suları ile günboyu kısa süreli karşılaşmalarda ortamın minerallerinin AD'li hastalarda kolonize olabilen *S.aureus* bakterisine belirgin etkisinin olamayacağını düşündürmüştür. Yüksek mineral içeriğine sahip suların, bakteriyel üremeyi arttırmaktan çok baskılaması beklenmelidir. Japonya'dan bildirilen çalışmada, AD'li hastalardaki *S.aureus*'un ortamdaki mangan ve/veya iyot iyonları ile asit ortamda karşılaşmalarının bakteriyel yükü azalttığı belirtilmektedir. Mangan ve iyodun dezenfektan özelliğinde olmasının da bu sonuca neden olabileceği ileri sürülmektedir. Bu durumun AD alevlenmelerinin kontrolüne önemli olduğu belirtilmiştir [1,15]. Farklı kaynak sularının mineral içeriklerinin farklılığı sonucunda bölgesel termal su kaynaklarından hastaların faydalanabilmesi doğal bir sonuçtur. Ancak bu araştırmada, Karahayıt termal sularının *S.aureus* kökenleri üzerine inhibitör etkisi saptanmamıştır. Araştırmada kullanılan termal kaynağın farklı pH aralığı değerlerinde bulunabilmesi de, ortamda bulunan iyonların

aktivitelerini etkilemesi nedeniyle, diğer bir neden olabilir.

Karahayıt bölgesi termal suları halkımız tarafından sık kullanılan bir ortamdır. Bu ortamın sağlığa katkılarının araştırılması önemlidir.

### Kaynaklar

1. Matz H, Orion E, Wolf R. Balneotherapy in dermatology. *Dermatol Ther* 2003; 16: 132-40.
2. Gökgöz A. Pamukkale-Karahayıt-Gölemezli hidrotermal karstının hidrojeolojisi. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, 1994.
3. Ergin Ş, Kaçar N, Ergin Ç, Kaleli İ, Tikveşli S. Atopik dermatitli hastalardan izole edilen *Staphylococcus aureus* kökenlerinde mupirosin ve fusidik asit direncinin karşılaştırılması. *Pam Tıp Derg* 2010; 3: 29-31.
4. Matsui K, Nishikawa A, Suto H, Tsuboi R, Ogawa H. Comparative study of *Staphylococcus aureus* isolated from lesional and non-lesional skin of atopic dermatitis patients. *Microbiol Immunol* 2000; 44: 945-7.
5. Ricci G, Patrizi A, Neri I, Bendandi B, Masi M. Frequency and clinical role of *Staphylococcus aureus* overinfection in atopic dermatitis in children. *Pediatr Dermatol* 2003; 20: 389-92.
6. Sukenik S, Abu-Shakra M, Flusser D. Balneotherapy in autoimmune disease. *Isr J Med Sci* 1997; 33: 258-261.
7. Kartz B. Incorporating a medical spa into a physician-run practice. *Dermatol Clin* 2008; 26: 307-19.
8. Schessinger J. Spa dermatology: Past, present, and future. *Dermatol Clin* 2008; 26: 403-11.
9. Taub MF. Procedures offered in the medical spa environment. *Dermatol Clin* 2008; 26: 341-58.
10. Gold MH. Personal decisions in a dermatology spa. *Dermatol Clin* 2008; 26: 321-5.
11. Gilani SJ, Gonzalez M, Hussain I, Finlay AY, Patel GK. *Staphylococcus aureus* re-colonization in atopic dermatitis: beyond the second. *Clin Dermatol* 2005; 30: 10-3.
12. Noble W.C. Skin bacteriology and the role of *Staphylococcus aureus* in infection. *Br J Dermatol* 1998; 139: 9-12.
13. Breuer K, Kapp A, Werfel T. Bacterial infections and atopic dermatitis. *Allergy* 2001; 56: 1034-41.
14. Abeck D, Mempel M. *Staphylococcus aureus* colonization in atopic dermatitis and its therapeutic implications. *Br J Dermatol* 1998; 139: 13-6.
15. Inoue T, Inoue S, Kubota K. Bactericidal activity of manganese and iodide ions against *Staphylococcus aureus*: a possible treatment for acute atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1999; 79: 360-362.
16. Kubota K, Machida I, Tamura K, et al. Treatment of refractory cases of atopic dermatitis with acidic hot spring. *Acta Derm Venereol* 1997; 77: 452-4.
17. Celerier P, Richard A, Litoux P, Dreno B. Modulatory effects of selenium and strontium salts on keratinocyte-derived inflammatory cytokines. *Arch Dermatol Res* 1995; 287: 680-2.
18. Karatepe M, Ergin Ş. Kaklık Mağarası (Kokar Hamam): Cilt hastalıklarının tedavisinde halk uygulaması örneği. XX.Ulusal Dermatoloji Kongresi, Bildiri Kitabı, Çeşme, 2004; P213.
19. Barut IF, Erdogan N, Berköz B, Aldinç F. Denizli ve çevresindeki termal mineralli suların tıbbi önemi. 63. Türkiye Jeoloji Kurultayı, MTA-Ankara, Bildiri Özleri Kitabı, 2010; 314-5.