

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

TIBBİ LABORATUVAR

**MİKROBİYOLOJİK ANALİZLER ÖNCESİ
HAZIRLIK
725TTT097**

Ankara, 2011

- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
- Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.

PARA İLE SATILMAZ.

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR.....	iii
GİRİŞ.....	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1.....	3
1. TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINI TANIMA.....	3
1.1. Tıbbi Mikrobiyolojiye Giriş	3
1.2. Mikroorganizmaların Adlandırılması	4
1.3. Mikroorganizmaların Sınıflandırılması	5
1.3.1. Ökaryot (Eucaryotic) Mikroorganizmalar	5
1.3.2. Prokaryot (Procaryot) Mikroorganizmalar.....	8
1.3.3. Viruslar ve Viroidler.....	20
1.4. Mikrobiyoloji Laboratuvarının Fiziki Yapısı	22
1.4.1. Hasta ve İnceleme Örnekleri Kabul Odası.....	23
1.4.2. Hazırlık Bölümü	23
1.4.3. Besiyeri Hazırlama Odası	23
1.4.4. Bakteriyolojik İncelemeler Laboratuvarı	24
1.4.5. Serolojik İncelemeler Laboratuvarı	24
1.4.6. Mikolojik İncelemeler Laboratuvarı.....	24
1.4.7. Virolojik İncelemeler laboratuvarı	25
1.5. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kullanılan Araç-Gereçler, Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	25
1.5.1. Araç-Gereçler.....	25
1.5.2. Kimyasal Maddeler	26
1.5.3. Cihazlar	26
1.6. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Uyulması Gereken Kurallar.....	26
UYGULAMA FAALİYETİ	28
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	30
ÖĞRENME FAALİYETİ-2.....	31
2. MİKROBİYOLOJİK ANALİZLERDE KULLANILACAK ARAÇ-GEREÇLERİ	
STERİLİZASYONA HAZIRLAMA	31
2.1. Sterilizasyonla İlgili Terimler.....	31
2.2. Sterilizasyon Yöntemleri	32
2.2.1. Isı ile Sterilizasyon	33
2.2.2. Süzme (Filtrasyon) ile Sterilizasyon	35
2.2.3. Kimyasal Maddelerle Sterilizasyon.....	35
2.2.4. Işınlarla Sterilizasyon.....	35
2.3. Araç-Gereçlerin Sterilizasyona Hazırlanması	35
2.3.1. Araç-Gereçlerin Ambalajlanması	35
UYGULAMA FAALİYETİ	38
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	39
ÖĞRENME FAALİYETİ-3.....	40
3. BASINÇLI BUHARLA STERİLİZASYON	40
3.1. Basınçlı Buharla Sterilizasyon	40
3.2. Araç-Gereçlerin Basınçlı Buharla Sterilizasyonu	41
3.2.1. Otoklavda Sterilizasyon	42
3.2.2. Otoklavda Yapılan Sterilizasyonun Kontrolü.....	43
3.3. Steril Malzemelerin Kullanılması	45
UYGULAMA FAALİYETİ	46
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	48
ÖĞRENME FAALİYETİ-4.....	49

4. KİMYASAL MADDELERLE STERİLİZASYON.....	49
4.1. Dezenfeksiyon ve Antisepsi	49
4.1.1. Dezenfeksiyon ve Antisepsi Etkileyen Etmenler	49
4.1.2. Dezenfektan ve Antiseptik Maddelerin Etki Mekanizmaları.....	50
4.1.3. İyi Bir Dezenfektanda Aranacak Özellikler	50
4.1.4. Başlıca Dezenfektan ve Antiseptikler	50
4.1.5. Dezenfeksiyon ve Antisepsinin Uygulama Alanları	52
4.2. Mikrobiyolojik Kirli Malzemelerin Toplanması	53
4.2.1. Kirli Malzemelerin Toplandığı Ortamlar	53
4.3. Steril Edilmiş Kirli Cam Malzemelerin Mekanik Temizliği	54
4.3.1. Kirli Cam Malzemelerin Mekanik Temizliği	55
UYGULAMA FAALİYETİ	57
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	61
ÖĞRENME FAALİYETİ-5.....	62
5. KURU SICAK HAVA İLE STERİLİZASYON YAPMA	62
5.1. Kuru Sıcak Hava ile Sterilizasyon	62
5.2. Sterilliğin Denetlenmesi.....	63
UYGULAMA FAALİYETİ	64
ÖLÇME DEĞERLENDİRME	65
ÖĞRENME FAALİYETİ-6.....	66
6. TİNDALİZASYON İLE STERİLİZASYON.....	66
6.1. Tindalizasyon.....	66
UYGULAMA FAALİYETİ	68
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	69
ÖĞRENME FAALİYETİ-7.....	70
7. YAKARAK VE ALEVDEN GEÇİREREK STERİLİZASYON YAPMA	70
7.1. Yakma Yöntemi ile Sterilizasyon	70
7.2. Alevden Geçirme (Flambaj) Yöntemi ile Sterilizasyon	71
UYGULAMA FAALİYETİ	72
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	73
ÖĞRENME FAALİYETİ-8.....	74
8. FİLTREASYON (SÜZME) İLE STERİLİZASYON	74
8.1. Filtrasyon ile Sterilizasyon	74
8.1.1. Mikroorganizmaları Adsorbsiyon Mekanizması ile Tutan Süzgeçler.....	74
8.1.2. Mikroorganizmaları Mekanik Tutma Mekanizması ile Tutan Süzgeçler	75
8.1.3. Süzgeçlerin Denetlenmesi	76
UYGULAMA FAALİYETİ	77
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	78
ÖĞRENME FAALİYETİ-9.....	79
9. IŞINLARLA STERİLİZASYON	79
9.1. Işınlarla Sterilizasyon.....	79
9.1.1. İyonize Edici Işınlara	79
9.1.2. İyonize Edici Olmayan Işınlara	79
UYGULAMA FAALİYETİ	81
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	82
MODÜL DEĞERLENDİRME	83
CEVAP ANAHTARLARI.....	85
KAYNAKÇA.....	87

AÇIKLAMALAR

KOD	725TTT097
ALAN	Tıbbi Laboratuvar
DAL/MESLEK	Tıbbi Laboratuvar Teknisyenliği
MODÜLÜN ADI	Mikrobiyolojik Analizler Öncesi Hazırlık
MODÜLÜN TANIMI	Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarının tanıtıldığı ve mikrobiyolojik analizlerde kullanılan araç-gereçleri sterilizasyona hazırlama, araç-gereçlerin mekanik temizliği ve uygun yöntemlerle sterilizasyonunu yapma becerilerinin kazandırıldığı öğretim materyalidir.
SÜRE	40/32
ÖNKOŞUL	Tıbbi Laboratuvar Güvenliği ders modülleri ile İnsan Vücudunun Bölümleri ve Temel Yapısı modülünü almış olmak
YETERLİK	Mikrobiyoloji laboratuvarını tanımak, analizlerde kullanılan araç-gereçlerin mekanik temizliğini yapmak, araç gereçleri tekniğine uygun ambalajlamak, sterilizasyon yöntemlerini kullanarak araç-gereçlerin sterilizasyonunu yapmak
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç Mikrobiyolojik analizler öncesi hazırlıkları yapabileceksiniz. Amaçlar <ol style="list-style-type: none">1. Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarını tanıyabileceksiniz.2. Mikrobiyolojik analizlerde kullanılacak araç-gereçleri sterilizasyona hazırlayabileceksiniz.3. Basınçlı buharla sterilizasyon yapabileceksiniz.4. Kimyasal maddelerle sterilizasyon yapabileceksiniz.5. Kuru sıcak hava ile sterilizasyon yapabileceksiniz.6. Tindalizasyon ile sterilizasyon yapabileceksiniz.7. Yakarak ve alevden geçirerek sterilizasyon yapabileceksiniz.8. Filtrasyon ile sterilizasyon yapabileceksiniz.9. Işınlarla sterilizasyon yapabileceksiniz.

EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	<p>Donanım: Deney tüpü, petri kutusu, lam-lamel, balon, balon-joje, cam pipet, pastör pipeti, otomatik pipet, erlenmayer, beherglas, şişe, tüp fırçası, öze, eküvyon, dezenfektanlar, antiseptikler, otoklav, etüv, pasteur fırını, koch kazanı, benmari, trowmel, bek, distile su, , küvet, numune kapları, cam silindir, metal kova, plastik kova, kapaklı plastik kova, otoklav poşeti, tıbbi atık poşeti, indikatör bant, süzdürme kapları, filtreler, ultra viyole lambası, ambalaj kağıdı, alüminyum kağıdı, paket ipi, pamuk, amerikan bezi, sarf malzemeleri vb.</p> <p>Ortam: Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarı ve merkez sterilizasyon üniteleri</p>
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	<p>Modülün içinde yer alan, her faaliyetten sonra verilen ölçme araçları ile kazandığımız bilgileri ölçerek kendi kendinizi değerlendireceksiniz.</p> <p>Öğretmen, modülün sonunda, ölçme aracı (test, çoktan seçmeli, doğru-yanlış, vb.) kullanarak modül uygulamaları ile kazandığımız bilgi ve becerileri ölçerek sizi değerlendirecektir.</p>

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Mikroorganizmalar; yeryüzünde her yerde havada, suda, toprakta ve canlılarda bulunur. Uygun ortam bulduklarında üreyip-çoğalırlar. İnsan vücudunda yerleşip çoğalan mikroorganizmalar, enfeksiyonlara (bulaşıcı hastalıklara) sebep olur. Enfeksiyon hastalıklarının tanı ve tedavisinde laboratuvar bulguları büyük önem taşır.

Laboratuvar çalışmalarında amaç; kaliteli ve doğru çalışmalar yaparak hastalık tanısını doğru koydurmak ve dolayısıyla doğru tedavi ile hastayı sağlığına kavuşturmaktır. Laboratuvarda doğru ve kaliteli çalışma ancak temizliğe riayet etmek ve genel laboratuvar kurallarını tekniğine göre uygulamakla gerçekleşir.

Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarında yapılan çalışmaların her aşamasında, çalışma ortamının ve araç-gereçlerin mikroorganizmalardan arındırılmış olması gerekmektedir. Bu amaçla yapılan işlemlerin başında, otoklavla yapılan sterilizasyon ve çeşitli dezenfektanların kullanıldığı temizlik yöntemleri gelir.

Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan her türlü malzeme, mutlaka steril olmalıdır. Çalışma bitiminde, tüm kirli malzemelerin temizliği için öncelikle otoklavda steril edilerek mikroorganizmalar yok edilmeli sonra disposable (tek kullanımlık) malzemeler özel toplama kaplarında tıbbi atık merkezlerine gönderilirken geri dönüşümlü tüm malzemelerin tekniğine uygun mekanik temizlik işlemleri yapılmalı son olarak da malzemeler ambalajlanıp otoklavda steril edilerek kullanıma hazır hale getirilmelidir.

Mikrobiyolojik analiz çalışmaları ve kirli-araç gereçlerin (malzemelerin) temizlenmesi sırasında mutlaka koruyucu güvenlik önlemleri alınmalıdır. Koruyucu önlemleri almanın, çevre sağlığı ve çalışanın sağlığını korumak açısından da büyük önemi vardır.

Bu modülde elde edeceğiniz kazanımlarla seçmiş olduğunuz tıbbi laboratuvar alanının temelini oluşturan tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarını tanıyarak, mikrobiyolojik analizlerde kullanılan araç-gereçlerin mikroorganizmalardan arındırılabilmesi için kirli malzemeleri önce uygun yöntemlerle steril ederek disposable malzemeler ile diğer kontamine (mikroorganizma bulaşılı) malzemeleri güvenli bir şekilde atabilecek ve tekrar kullanılabilir nitelikteki geri dönüşümlü malzemelerin mekanik temizliğini de çeşitli dezenfektanları kullanarak yapabileceksiniz. Ayrıca mekanik temizliği yapılmış malzemeler ile ilk defa kullanılacak yeni malzemeleri usulüne uygun steril ederek analiz çalışmalarına hazır hale getirebileceksiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarını tanıyabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Hastane ortamına giderek mikrobiyoloji laboratuvarının bölümlerini tanıyınız.
- Mikroorganizmalar hakkında bilgi edinerek arkadaşlarınızla paylaşınız.
- Mikroorganizmaların şekillerini şemalar üzerinde inceleyiniz.
- Mikrobiyoloji laboratuvarında uyulması gereken hususlar hakkında bilgi edinerek arkadaşlarınızla paylaşınız.

1. TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINI TANIMA

1.1. Tıbbi Mikrobiyolojiye Giriş

Mikrobiyoloji sözcüğü Yunancadır. Mikro: küçük, bios: canlı, yaşam, logos: bilim anlamındadır. Yani, küçük canlılardan bahseden bilim anlamına gelir. İnsan vücudunda çeşitli hastalıklara neden olan mikroorganizmalar vücut yüzeyinde, çeşitli organ boşluklarının da, derin dokularda bulunabildiği gibi çevremizdeki eşyalarda, havada, suda, toprakta yaygın olarak bulunur.

Mikroorganizmalar, gözle görülmeyen, ancak mikroskopla görülebilen küçük canlılardır.

Mikrobiyoloji, geniş kapsamlı bir bilim dalı olup birçok bölümlere ayrılır. Bunların başlıcaları;

- Tıbbi mikrobiyoloji,
- Besin mikrobiyolojisi,
- Su mikrobiyolojisi,
- Endüstriyel mikrobiyoloji,
- Tarım ve toprak mikrobiyolojisi,
- Atmosfer ve uzay mikrobiyolojisidir.

Bizim konumuzu tıbbi mikrobiyoloji oluşturmaktadır.

Tıbbi mikrobiyoloji, mikroorganizmaların; özellikleri, yüksek canlılarla ve birbirleriyle ilişkileri, nerede buldukları, hasta organizma veya tabiattan nasıl elde edilebileceği ve üretilebileceği gibi konulardan bahseder. Aynı zamanda karışık belirtiler veren enfeksiyon (bulaşıcı) hastalıklarının teşhisi, bu hastalıklardan korunma yolları ve bunların yaptığı salgın hastalıklarla savaşılabilmeyen yollarını öğreten bir bilim dalıdır.

Tıbbi mikrobiyoloji de birçok alt bilim dallarına ayrılmıştır. Bunlar:

- Genel mikrobiyoloji,
- Bakterioloji; bakterileri inceleyen bilim dalı,
- İmmünoloji; bağışıklık bilimi,
- Viroloji; virüsleri inceleyen bilim dalı,
- Mikoloji; mantarları inceleyen bilim dalı,
- Parazitoloji; parazitleri inceleyen bilim dalı.

1.2. Mikroorganizmaların Adlandırılması

Mikroorganizmaların adlandırılması 18. yy.da yaşamış İsveçli Carl Van Linne'nin koyduğu çift ad kuralına göre yapılır.

Buna göre;

- İlk ad cinsi belirtir ve ilk harfi büyük yazılır. İkinci ad türü belirtir, ilk harfi küçük yazılır.

Örnek: *Clostridium perfringens*, *Neisseria gonorrhoea* gibi.

- Bakterilerin generic (cins, genel) adının ilk veya ilk birkaç harfi yazılmak suretiyle kısaltılır.

Örnek: *B. subtilis* (*Bacillus subtilis*), *Staph aureus* (*Staphylococcus aureus*) gibi.

- Mikroorganizma adları koyu renkli, altı çizili veya italik harflerle yazılır.

Örnek: ***Vibrio cholera***, *Enterococ*, *Salmonella typhi* gibi.

- Mikroorganizma genelde; kendine ait bir özellik, neden olduğu bir hastalıkla veya organizmada sıklıkla yerleştiği bir organın adı ya da mikroorganizmayı bulan kişinin (bilim adamının) adıyla da adlandırılır.

Örnek: *E.Coli* (*Escherichia coli*) orijinini kolon (colon) kelimesinden, *Pseudomonas aerogenes* (*P.aerogenes*) bakterinin gaz oluşturmasından, *Streptococcus* zincir şeklinde diziliş görünümünden, *Haemophilus* bakterinin kan sever özelliğinden, *Mycobacterium tuberculosis* tüberküloz hastalığı oluşturmasından, *Koch basili* mikroorganizmayı bulan bilim adamının isminin verilmesinden vb. gibi.

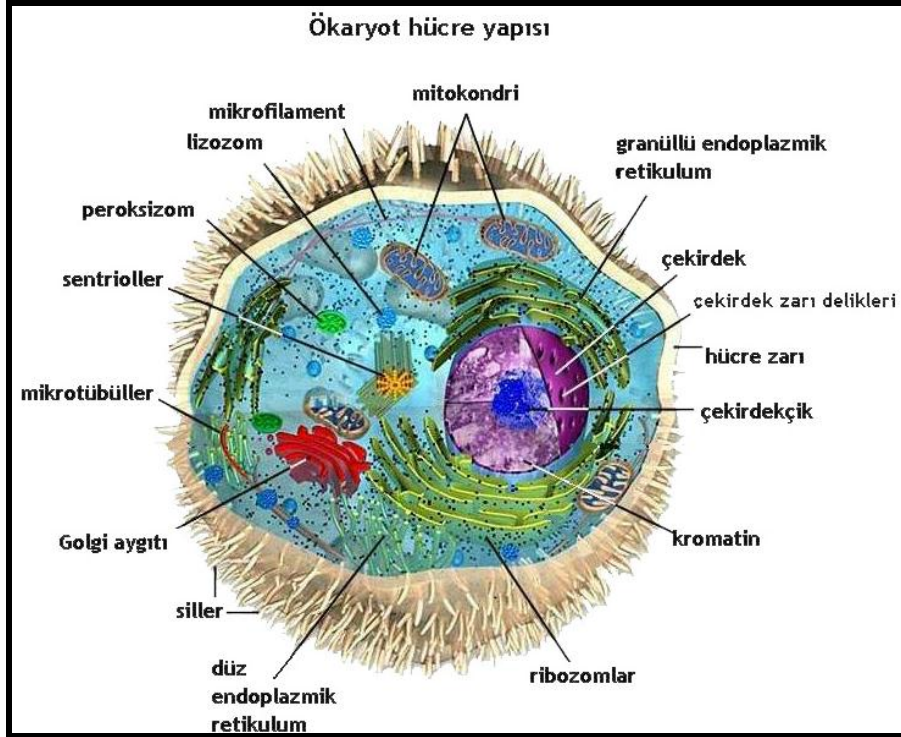
1.3. Mikroorganizmaların Sınıflandırılması

Yapılarına göre mikroorganizmaları, ökaryot mikroorganizmalar, prokaryot Mikroorganizmalar ve Viruslar olmak üzere üç büyük grupta toplamak mümkündür.

1.3.1. Ökaryot (Eucaryotic) Mikroorganizmalar

Bu grupta, hücre yapıları bakımından bitki ve hayvan hücreleri ile benzerlik gösteren mikroorganizmalar yer alır. Bunlara gerçek çekirdekli anlamına gelen ökaryot adı verilmiştir. Başlangıçta mikroorganizmaları bitkiler ve hayvanlar alemi dışında ayrı bir evren olarak göstermek için kullanılan protista terimi, günümüzde ökaryotik mikroorganizmalar için kullanılmaktadır.

Algler (su yosunları), protozoonlar ve mantarlar bu grupta yer alır.

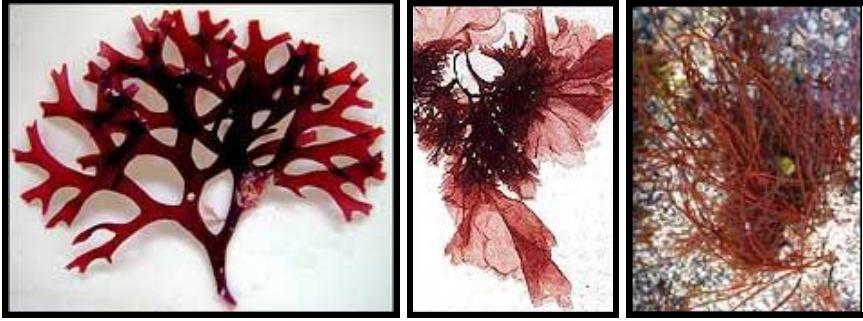


Resim 1.1: Ökaryot mikroorganizmaların hücre yapısı

1.3.1.1. Algler

Algler, prokaryotik (basit yapıli canlılar) ve ökaryotik (gelişmiş canlılar) olmak üzere iki ayrı sınıfa dâhil edilebilir. Prokaryotik algler gerçek nukleusları (hücre çekirdeği) olmadığından ökaryotik alglerden ayrılır.

Ökaryotik algler içinde yer alan kırmızı alglerin çoğu denizlerde yaşar ve renkli fikoeritrin pigmentiyle karakterizedir. Bazı türlerin hücre duvarlarında kalsiyum karbonat depolanır. Bu türün bazılarının pektin yapılı hücre çeperlerinden agar agar adı verilen jel elde edilir. Besin ve ilaç endüstrisinde kullanılan türleri de vardır.



Resim 1.2: Kırmızı algler

Ökaryotik algler içinde yer alan kahverengi algler ya da esmer su yosunları ise 30 metreye ulaşabilen boylarıyla en iri yapılı alglerdir; ancak, tropik denizlerde bulunan türlerinden bazıları, mikroskobik boylarda da olabilir. Kayalık sahillerde, sıklıkla soğuk ve ılıman sularda yaşar.



Resim 1.3: Kahverengi algler

1.3.1.2. Protozoonlar

Protozoonlar; serbest ya da parazit olarak yaşayan, değişik boyut ve şekillerdeki mikroorganizmalardır. Hücre zarı, kromozomları içeren bir hücre nükleusu, mitokondriler ve endoplazmik retikulum gibi organellere sahiptirler. Bunların dışında, bazı ilave metabolik organelleri ve psödopodlar (yalancı ayaklar), kamçılar gibi hareket organelleri vardır. Parazit protozoonların çoğu, içlerinde evrim geçirerek şekil değiştirip çoğaldıkları artropodlarla taşınırlar.

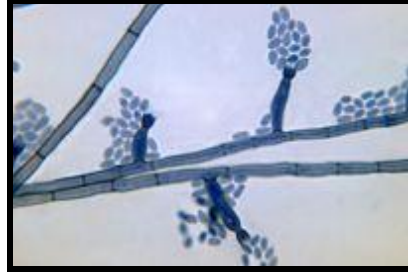


Resim 1.4: Protozoonlar

1.3.1.3. Mantarlar

Mantarlar, ökaryot hücreler olup genellikle tek hücrelidirler; bazıları çok hücreli bitki ve hayvan hücrelerine benzer. Belirgin bir çekirdek, çekirdekçik, çekirdek zarı stoplazma, mitokondri, golgi aygıtı, endoplazmik retikulum, sterol ve kitinli (chitin: bazı böceklerin vücudunu örten kabuk ya da kabuğumsu polisakkaritten ibaret sert madde) sert bir hücre duvarı bulunur. Fotosentez yapamaz. Doğada yaygın olarak bulunan mantarlar arasında, insanlarda hastalık yapanlar sınırlı sayıdadır. Mantarların insanlarda oluşturduğu hastalığa, mikoz adı verilir.

Mantarların üremesini sağlayan yapılara, mantar sporu adı verilir. İşlevleri, bakteri sporlarından farklıdır çünkü bakteri sporları üreme organeli olmayıp bakterinin dirençli şekilleridir.



Resim 1.5: Mikroskobik bir mantarın hifleri ve sporları

Mantarları iki çeşit spor oluşturur:

- **Eşeyli spor:** Hücre çekirdekleri arasında birleşmelerle oluşan sporlara eşeyli spor denir.
- **Eşeysiz spor:** Hücre çekirdekleri arasında birleşme olmaksızın tomurcuklanma yoluyla oluşan sporlara eşeysiz spor denir.
- Mantarların çoğu bu yolla ürer.

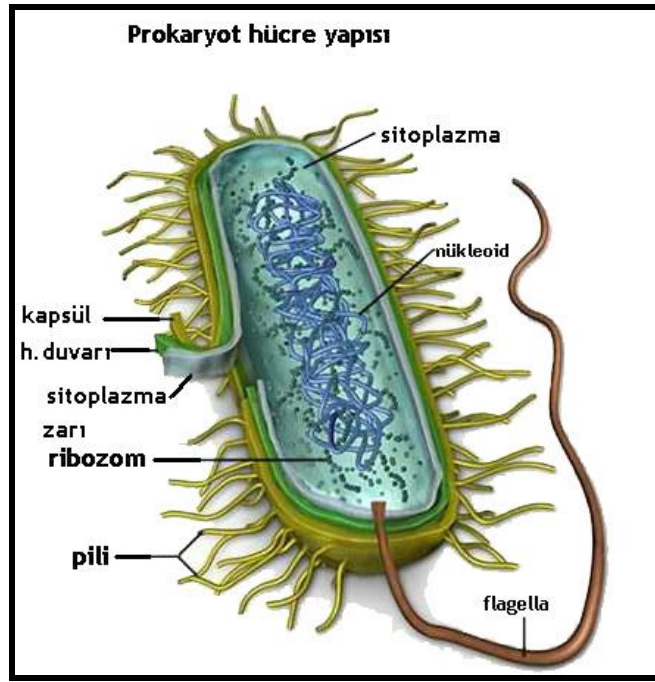
Mantarlar dış görünüm bakımından küfler ve mayalar olarak iki grupta incelenir:

- **Küfler:** Özel yapıya sahip, kompleks, çok hücreli ipliksi, pudra veya kadife görünümünde mikroorganizmalardır. Küflerin oluşturduğu ipliksi yapılara hif, hif yığınlarına da micellum denir. Micellum üzerinde, üreme organelleri olan sporlar yer alır. Tüm mantar vücuduna thallus, hifi tek tek hücrelere bölen enine duvarlara, septum denir. Bazı küflerden çeşitli ürünler (organik asit, antibiyotik gibi.) elde edilebilir.
- **Mayalar:** Tek hücreli, oval ya da yuvarlak, krem kıvamında maya kokusunda bakterilerin görünümüne benzeyen mikroorganizmalardır. Bazı mayalardan ekmek, sirke gibi besin yapımında faydalanılır.

1.3.2. Prokaryot (Procaryot) Mikroorganizmalar

Belli bir çekirdekleri olmayan, kalıtım maddesi sitoplâzma dağınık halde bulunan çok basit hücrelerdir. Bunların zarları ve organelleri yoktur. Sadeceribozom organeli içerir. Bazılarında sitoplâzma klorofil pigmentleri veya hücre zarından oluşan mezozomlar bulunabilir.

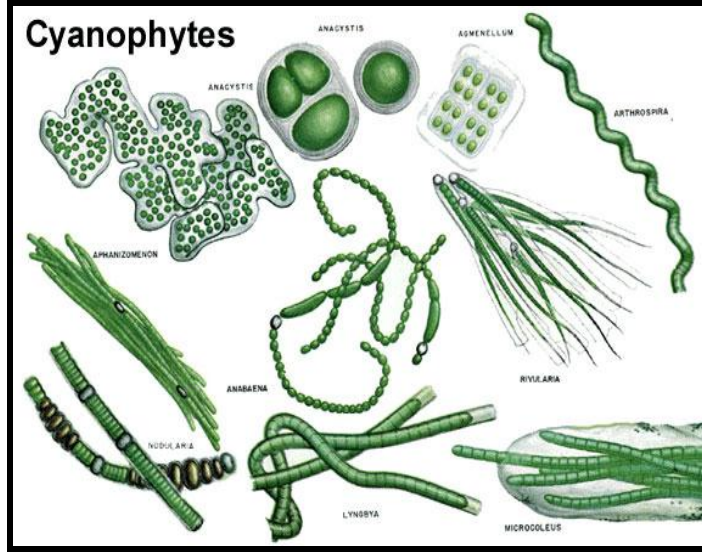
Daha basit bir hücre yapısına sahip, gerçek bir hücre çekirdeği olmayan Mavi-Yeşil Algler (Cyanobacteriae) ve bakteriler (klamidya, riketsiya ve mikoplazmalar dâhil) bu grup içinde yer alır.



Resim 1.6: Prokaryot mikroorganizmaların hücre yapısı

1.3.2.1. Mavi-Yeşil Algler (Cyanobacteriae)

Mavi-yeşil algler koloni şeklinde sulara ve nemli topraklarda yaşayan, iplikçi yapı gösteren bitkisel tek hücreli canlılardır. Fotosentez yapar. Prokaryot oldukları için klorofilleri kloroplastta değil sitoplazmada bulunur. Yeşil rengi veren klorofilin yanında, mavi renk veren fikosiyonin pigmentleri bulundurur. Ökaryot grubuna dahil olan algler ise çok hücrelidir ve mavi-yeşil alglerle karıştırılmamalıdır.



Resim 1.7: Mavi yeşil algler

1.3.2.2. Bakteriler

Bakteriler; tek kromozomlu, nukleus zarı mitokondrileri olmayan, enerji üretimi hücre zarında gerçekleşen ve çoğu hücre duvarı içeren canlılardır. Riketsiya ve klamidyalar **zorunlu hücre içi** bakterilerdir. Mollicutes sınıfı içinde ise **hücre duvarı içermeyen** ve sentetik besiyerlerinde üretilen mikoplazma ve ureaplazmalar bulunur.

Bakteriler; basit bir hücre yapısına sahiptir. Tipik olarak birkaç mikron uzunluğunda olan bakterilerin çeşitli şekilleri vardır (yuvarlak, spiral şekilli, çubuksu). Bazı bakterilerin şekilleri değişken olup bunlara pleomorfik (çok şekilli) denir. Bakterilerin şeklini, katı hücre duvarı belirler.

Bakterilere her ortamda rastlamak mümkündür. Toprakta, deniz suyunda, okyanusun derinliklerinde, yer kabuğunda, deride, hayvanların barsaklarında, asitli sıcak su kaynaklarında, radyoaktif atıklarda büyüeyebilen tipleri vardır.

Tipik olarak bir gram toprakta bulunan bakteri hücre sayısı 40 milyon, bir mililitre tatlı suda ise bir milyondur. İnsan vücudunda bulunan bakteri sayısı, insan hücresi sayısının on katı kadardır. Özellikle, deride ve sindirim yolu içinde çok sayıda bakteri bulunur. Bunların büyük bir çoğunluğu bağışıklık sisteminin koruyucu etkisiyle zararsızdır., Ayrıca bir kısmı da faydalı (probiyotik) olsalar da bazı bakteriler, patojendir ve enfeksiyöz hastalıklara neden olur.

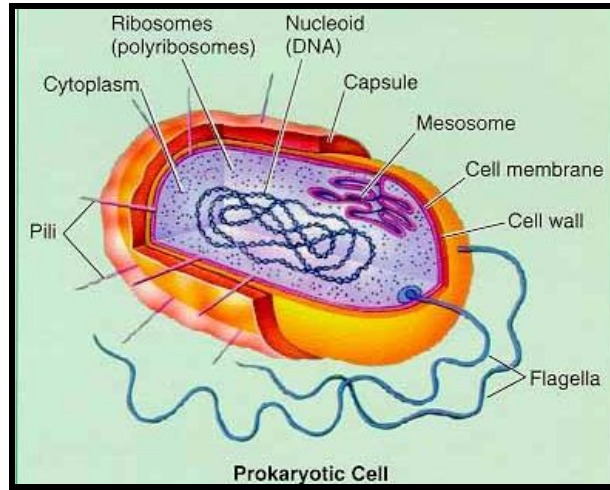
Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde antibiyotikler kullanılır., Bu nedenle antibiyotik direnci yaygınlaşmaktadır. Endüstride bakteriler, atık su arıtması, peynir ve yoğurt üretimi, biyoteknoloji, antibiyotik ve diğer kimyasalların imalatında önemli rol oynar.

Bakteri hücre yapısında bulunan başlıca oluşumlar:



Resim 1.8: Bakteriler

Çekirdek, stoplazma, stoplazmik membran ve hücre duvarıdır. Bazı bakteri hücrelerinde ayrıca kapsül, kirpik, pilus, spor, plazmid gibi oluşumlar da bulunur.



Şekil 1.1: Bakteri hücresinin yapısı

- **Çekirdek (Nucleus, Kromozom, DNA):** Bakterinin orta kısmında, yumak halinde bir tek kromozomdan meydana gelmiş bir çekirdek bulunur. Bu kromozomun yapısı, DNA molekülünden oluşur. Kromozomun etrafında bir çekirdek zarı yoktur. Kromozom yumağı bir ucu ile hücre zarında bulunan mezozoma bağlıdır. Çekirdek kalıtsal (genetik) özellikleri taşır. Özellikler, yavru hücrelere geçer.
- **Stoplazma (Cytoplasm):** Hücre zarının (sitoplazmik zarın) iç kısmında yer alan sitoplazma; saydam, hafif yapışkan kıvamda, homojen bir yapıya sahiptir. Stoplazma içinde çok sayıda RNA yapısında ribozomlar bulunur. Ribozomlar bakteriler için gerekli olan protein ve enzimlerin sentez yeridir. Bakteri yaşlandıkça stoplazma içinde çeşitli granüller oluşur. Stoplazmada bulunan bir başka oluşum da plazmidlerdir.
- **Hücre Zarı (Cytoplasmic Membrane, Stoplazmik Zar):** Stoplazmanın etrafında, onu kese gibi saran zardır. Stoplazma zarından stoplazmaya doğru uzanan girintili çıkıntılı uzantılara mezozom adı verilir. Mezozom, stoplazma zarı ile aynı görevi görür ve bakteri bölünmelerinde önemli rol oynar.

Stoplazmik zarın çeşitli görevleri vardır, bunlar:

- Selektif permeabilite (seçici geçirgen) özelliği olup bakteri hücresi ile dış ortam arasında madde taşıyıcılığı görevini yürütür; metabolizma artıklarını da dışarı verir.
 - Hücre içi basıncı sabit tutar.(Hücre içi ozmotik basıncı ayarlar.)
 - Solunum işlevi de bu zarda meydana gelir.
 - Besin parçalayıcı enzimler salgılayıp hücre içine alır. Besinleri parçalayarak sindirim işlevlerine yardımcı olur.
 - Duyusal reseptörleri taşır.
- **Hücre Duvarı (Bakteri zarı):** Stoplazma zarını çevreleyen, bakteriye şeklini veren sağlam ve dirençli bir yapıdır. Hücre duvarının bütünlüğü bozulursa bakteri ölür. Selektif semipermeable (seçici yarı geçirgen) özelliğiyle hücre için gerekli maddeleri dışarıdan alır; içerde biriken zararlı maddeleri dışarı atar. Bakteri zarının, hücre bölünmesinde de önemi fazladır.
- **Kapsül:** Bazı bakterilerde bulunan bakteri zarını dıştan çevreleyen, jel kıvamında, bakteri hücresinin en dış kısmını oluşturan bölümdür. Bazı bakterilerde çok ince, bazılarında da çok kalın olabilir. Bir bakteride kapsülün olup olmadığı özel boyalar veya kapsül şişme deneyleri ile ortaya çıkabilir. Bakteri, mutasyonla veya uygunsuz ortamlarda kapsülünü kaybedebilir. Kapsülünü kaybeden bakteriler, yaşamını sürdürür. Kapsül bakterinin yaşamı için gerekli değildir. Gevşek bir yapıya sahip olduğu için bakteri zarının geçirgenliğini engellemez.

Kapsülün bazı görevleri vardır, bunlar:

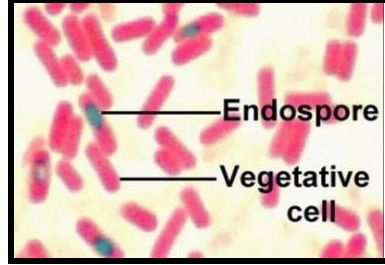
- Bakteri virulansını (hastalık yapma yeteneğini) artırır.
 - Bakteriyi, fagositoza karşı korur.
 - Bakteriye, antijenik özellik kazandırır.
- **Spor:** Basil şeklindeki bazı bakterilerin stoplazmaları içinde, bakteriler için uygun olmayan çevre şartlarında oluşur. Bakterinin spor oluşturup oluşturmayacağı genetik yapısında belirlenmiştir.

Bakteriler; bulunduğu ortamdaki besin yetersizliği, oksijenin varlığı ya da yokluğu, kuruluk, sıcaklık, kimyasal maddeler, ışınlar gibi olumsuz şartlarda vegetatif (bakterinin üreyen, beslenen şekli) halden sporlu hale geçer.

Sporlu bakteri, bir bakıma dinlenme halindedir. Metabolik bakımdan aktif değildir, bakterinin üremesi ile ilgisi yoktur; sadece canlılığın devamını sağlar. Bakterinin fiziksel, kimyasal ve diğer çevre etkilerine karşı dayanıklı olmasını sağlar. Sporum bakteri içindeki yeri, şekli ve büyüklüğünün bakterinin tanınmasında rolü vardır. Şartlar normale döndüğünde her bir spor vegetatif bakteriye dönüşür.

Bakterinin içinde oluştuğu yere göre sporlar  gruba ayrılır:

- **Santral Sporlar (Endosporlar):** Bakterinin tam ortasında oluşan sporlardır.



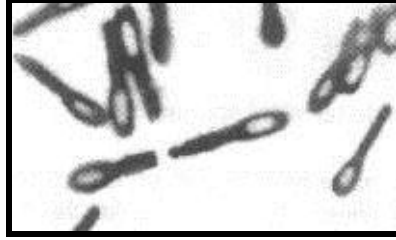
Resim 1.9: Santral sporlar

- **Terminal Sporlar:** Bakterinin bir ucunda oluşan sporlardır.



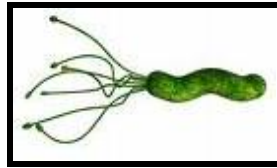
Resim 1.10: Terminal sporlar

- **Subterminal Sporlar:** Bakterinin ucuna yakın bir yerde oluşan sporlardır.



Resim 1.11: Subterminal sporlar

- **Kirpik (Kamçı, Flagella):** Genellikle omak ve burgu şeklindeki bakterilerde bulunan, değişik sayıda, iplik şeklinde uzantılar olup hareket organelleridir. Koklarda (yuvarlak şekli bakterilerde) bulunmaz. O nedenle koklar hareketsizdir. Bakteriler kirpiklerin dalgalanmasıyla hareket eder. Kirpikleri sayesinde bakteriler besin kaynaklarının olduğu bölgeye daha kolay ulaşabilir.



Resim 1.12: Flagella

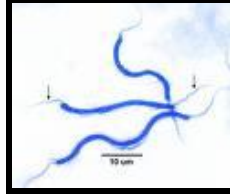
Kirpiğin şekline göre bakteriler şu isimleri alır:

- **Atriş (Atrichia):** Kirpiksiz bakteriler.
- **Monotriş (Monotrichia):** Sadece bir kutbunda kirpik bulunan bakteriler.



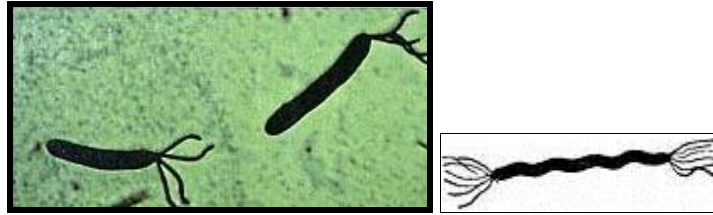
Resim 1.13: Monotriş

- **Amfitriş (Amphytrichia):** Her iki tarafında birer kirpik bulunan bakteriler.



Resim 1.14: Amfitriş

- **Lofotriş (Lophotrichia):** Bir ya da iki kutbunda, püskül şeklinde çok sayıda kirpik bulunan bakterilerdir.



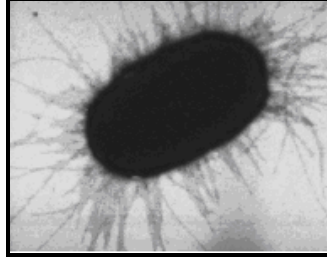
Resim 1.15: Lofotriş

- **Peritriş (Peritrichia):** Bakteri vücudunun tüm çevresinde kirpik bulunan bakterilerdir.



Resim 1.16: Peritriş

- **Pilus (Fimbria):** Hareketli, hareketsiz tüm bakterilerde görülen, bakterinin her yönünden çıkan kırpıklardan daha küçük, daha ince yapıdaki uzantılardır. Bakterinin hareketiyle ilgileri yoktur. Bakterilerin buldukları yere yapışmasını sağlarlar. Bu özellik bakterinin beslenmesinde önemlidir. Bazı bakterilerin genetik madde aktarımında rolü vardır, bunlara çekirdek pilusu adı verilir.



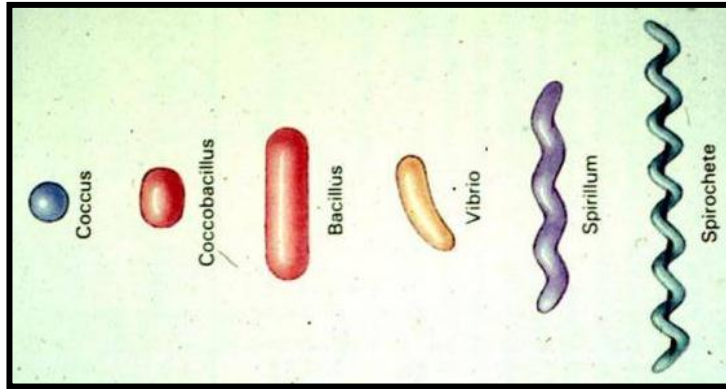
Resim 1.17: Pilus

- **Plazmidler:** Bakteri hücresinde bulunması zorunlu olmayan genetik yapılarıdır

Bakterilerin morfolojik yapısı:

Morfolojik yapı ile bakterilerin görünüm ve şekilleri ifade edilmektedir.

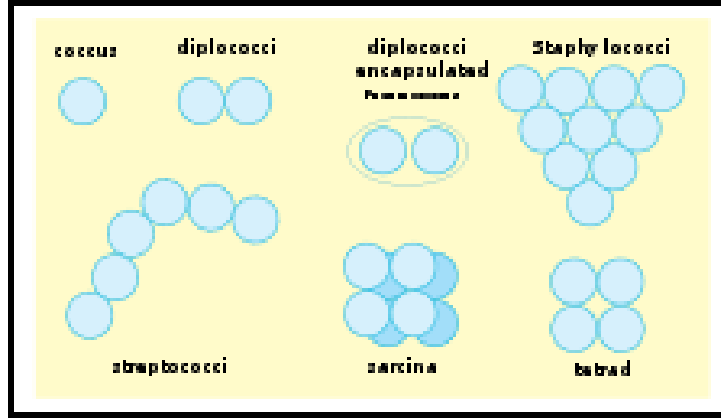
Bakteriler mikroskopik görünüm bakımından *koklar*, *basiller*, *spiraller* olmak üzere üç ana grupta incelenir.



Şekil 1.2: Bakterilerin morfolojik görünümüleri

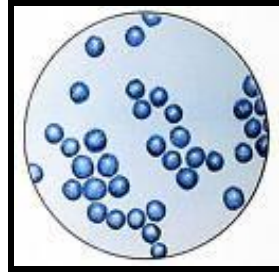
➤ **Koklar (Coccus) Yuvarlak Şekli Bakteriler**

Eni boyu birbirine yakın, yuvarlak şekilli bakterilerdir. Bazıları oval, kahve çekirdeği veya fasulye şeklinde de olabilir. Bölündükten sonra tek tek ya da yan yana gelerek gruplar oluşturabilirler. Koklar, mikroskopta incelendiğinde, birbirlerine karşı duruşlarına göre aşağıdaki isimleri alırlar.



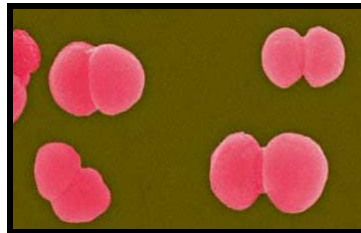
Şekil 1.3: Kokların şekil ve dizilişlerine göre görünüşleri

- **Mikrokoklar (Mikrococcus):** İkiye bölündükten sonra birbirinden ayrı, tek tek bulunan koklardır.



Resim 1.18: Mikrokoklar

- **Diplokoklar (Diplococcus):** Bölündükten sonra ikişerli koklar halinde bulunurlar. Birbirine bakan yüzeyleri düz ve hafif içbükeydir.



Resim 1.19: Diplokoklar

- **Streptokoklar (Streptococcus):** Sürekli aynı yönde bölünen, birbirleriyle ayrılmadan kısa veya uzun zincirler oluşturan koklardır. Zincir ne kadar uzun oluşmuşsa patojenlik o oranda artar.



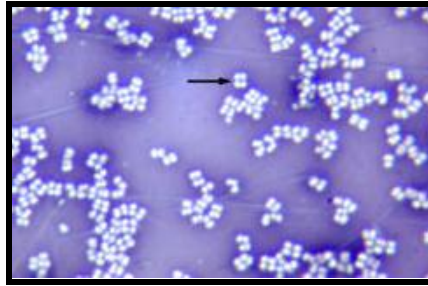
Resim 1.20: Streptokoklar

- **Stafilokoklar (Staphylococcus):** Bölündükten sonra birbirlerinden ayrılmayarak üzüm salkımına benzer kümeler oluşturan koklardır.



Resim 1.21: Stafilokoklar

- **Tetrakoklar (Tetracoccus):** Birbirlerine dikey iki yönde bölünen, dörderli kümeler halinde bulunan koklardır.
- **Sarsinler (Sarcina):** Bölünmesi birbirine dikey üç yönde meydana gelen, 8,12 veya 16 koktan oluşan balya ya da paket şeklinde koklardır.

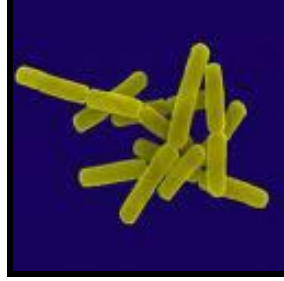


Resim 1.22: Sarsinler

➤ **Basiller (Bacillus) Çomak, Çubuk Şeklinde Bakteriler**

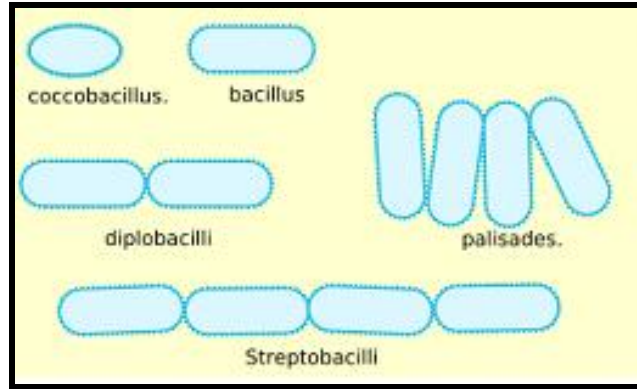
Boyları enlerinden fazla olan genellikle, çomak, çubuk ya da silindir şeklindeki bakterilerdir.

Basiller şekil ve dizilişlerine göre şöyle isimlendirilir:



Resim 1.23: Basiller

- **Düz Basiller:** Düzenli veya düzensiz tek tek bulunan, uzun çomak veya silindirik şeklindeki bakterilerdir.
- **Kokkobasiller:** Boyu enine yakın, kokla basil arasında görünen oval basillerdir.
- **Fuziform Basiller:** İki kenarı dışbükey, ortaları kalınca, uçları sivri olan mekik şeklindeki basillerdir.
- **Difteroid Basiller:** Bir veya iki ucu, bazen de ortası şişmiş görünümde olan basillerdir.
- **Streptobasiller:** Birbirleriyle ucuca gelip zincir oluşturan basillerdir.



Şekil 1.4: Basillerin şekil ve dizilişlerine göre görünüşleri

➤ **Spiraller (Spirillum), Burgu, Sarmal Şeklinde Bakteriler**

Spiraller yalnız bir kıvrımlı olabileceği gibi 10-15 kıvrımlı hatta daha fazla kıvrımlı olabilir. İki gruba ayrılır:

- **Spiroketler:** Birçok kıvrımı olan, yumuşak, bükülebilen ve kıvrımlarda kendi eksenini etrafında veya ileri geri hareket edebilen bakterilerdir.

Spiroketler üç grupta incelenir:



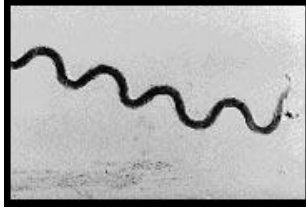
Şekil 1.5: Spiroketler

- **Borrelialar:** 3-7 arasında geniş ve düzensiz kıvrımları olan bakterilerdir.



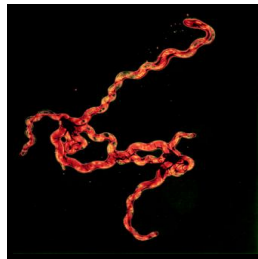
Resim 1.24: Borrelialar

- **Treponemalar:** Düzgün ve dik kıvrımları olan, boyları daha küçük bakterilerdir. Kıvrımlar hep sabittir; hareket halinde bile şekilleri değişmez.



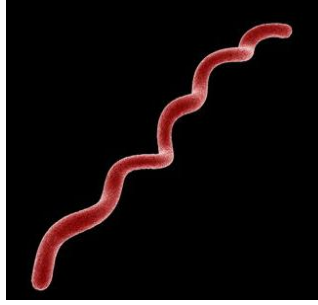
Resim 1.25: Treponemalar

- **Leptospiralar:** Bir eksen etrafında küçük ve dik kıvrımlı iki ucu çengel biçiminde bükülmüş bakterilerdir.



Resim 1.26: Leptospiralar

- **Spiriller:** Bir tek kıvrımı olan, sert vücutlu, kirpiği yardımıyla hareket eden bakterilerdir. Sert vücutluların bir alt grubu da vibriolardır. Virgül şeklinde bir tek kıvrımlı flagellum ile hareket eden bakterilerdir.



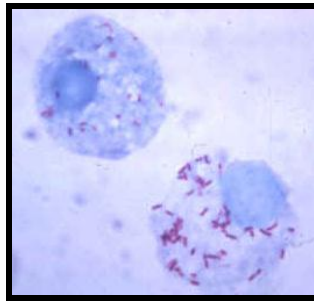
Resim 1.27: Spiriller

Bakteriler grubuna dahil mikroorganizmalar:

Riketsiyalar, mikoplazmalar ve klamidyalar, bakterilere benzer özelliklerinden dolayı bakteri çeşitleri içinde yer alır.

- **Riketsiyalar**

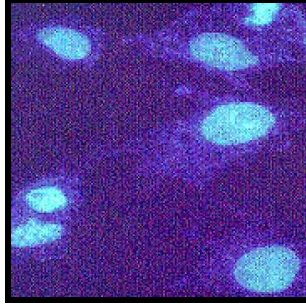
Bakteriler grubuna dâhil olan riketsiyalar, diğer bakterilere göre daha küçüktür. Hücre yapısı bakterilere benzer. Bir çekirdek, stoplazma, stoplazma zarı ve hücre çeperinden oluşur. Bakteriler gibi hem RNA hem de DNA nükleik asitlerini birlikte içerir. İkiye bölünme yoluyla çoğalır. Zorunlu hücre içi parazitlerdir. Çoğunlukla artropodlarda (eklembacaklılarda) rastlanır. Genellikle hareketsizdir. Hücre görünümüleri, daha çok kok, bazen küçük çomakçık bazen de değişik şekillerde olabilir. Bakterilerden küçük, virüslardan büyüktürler. Işık mikroskopunda incelenebilir; ancak elektron mikroskopunda daha iyi görünürler. Üremeleri için virüsler gibi canlı ortam gereklidir. Sentetik besiyerinde üreyen tek riketsiya, *R.quantana*'dır. Antibiyotiklerden bakteriler gibi etkilenir.



Resim 1.28: Riketsiyalar

- **Mikoplazmalar**

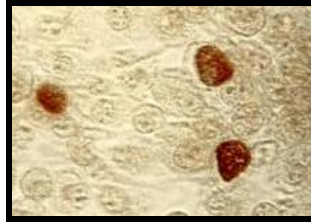
Bakteriler grubunda yer alan, hücre duvarı olmayan en küçük mikroorganizmalardır. 3 katlı sitoplazmik zarları vardır. İkiye bölünerek çoğalır. Hem RNA hem DNA nükleik asitlerini taşır. Sentetik besiyerlerinde ürerler. Bazı antibiyotiklerden etkilenirler. Kok, çomak, amibimsi, disk, yıldız, halka gibi çok çeşitli şekillerde olabilir.



Resim 1.29: Mikoplazmalar

- **Klamidyalar**

Hücre içi parazitler olup hücre yapıları bakterilere benzer. Genellikle yuvarlak şekillidirler.



Resim 1.30: Klamidyalar

1.3.3. Viruslar ve Viroidler

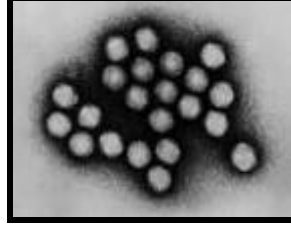
Viruslar; bakterilerden daha ilkel, daha basit yapıda, tam bir hücre yapısı göstermeyen, en küçük mikroorganizmalardır. Tek başına metabolizma aktiviteleri yoktur. Sadece canlı hücre içinde yaşar ve çoğalabilir. Sentetik besiyerlerinde üretilemez. Normal mikroskopla görülmez; ancak elektron mikroskobu ile incelenebilir.

Viruslar RNA ve DNA yapısında nükleik asit (çekirdek) , nükleik asiti çevreleyen proteinden yapılmış kapsid(kılıf) ve bazı viruslarda kapsidi çevreleyen lipid yapısında zarfdan (zardan) oluşmuştur.

Viruslardan daha küçük ve basit yapıları olan viroidler de bu grupta yer alır.

Virusları, RNA ve DNA virusları olmak üzere iki grupta toplamak mümkündür. Bu gruplarda yer alan viruslar şunlardır:

RNA virusları	DNA virusları
Picornaviruslar	Adenoviruslar
Retroviruslar	Herpesviruslar
Rhabdoviruslar	Poxviruslar

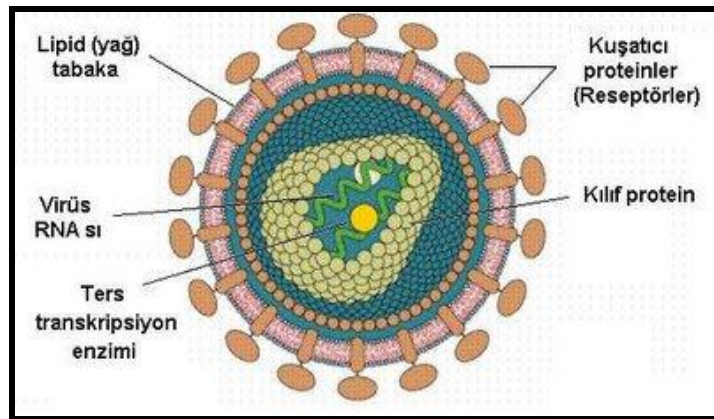


Resim 1.31: Elektron mikroskopisinde virüslerin görünümü

Virüsler infekte ettikleri canlılara göre çeşitli isimler alır, bunlar:

- **Virion:** Olgun virus partikülüne verilen bir diğer addır. Nükleik asit ve kapsid olmak üzere iki, bazı virüslarda 3 komponentten (unsur, elemandan) oluşur.
- **Viroid:** Bazı faydalı bitkilerin hastalık etkeni olan viroidler yapı bakımından yalnız bir tek RNA taşır, kapsid bulunmaz. İnsandaki Hepatit D Virüsü ile benzerlik gösterir.
- **Prion:** Hayvan hastalıklarının etkeni olan prionların yapısında RNA veya DNA gibi nükleik asit bulunmaz. Hücre tarafından kodlanan, kendine has şekli olan bir proteinden ibarettir.
- **Bakteriyofaj:** Bakterileri infekte eden virüslere, faj ya da bakteriyofaj denir. Genellikle belli bakterileri infekte edip orada çoğalır. Salmonella typhi, Escherichia coli buna örnektir.

Virüslerin yapısında şu oluşumlar bulunur:

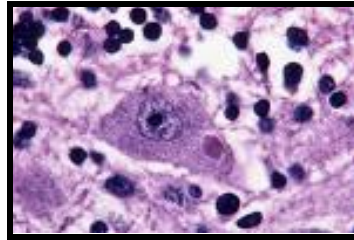


Şekil 1.6: Virüslerin yapısı

- **Çekirdek:** RNA veya DNA yapısındaki nükleik asitten oluşmuştur. Virusun ortasında tek ya da çift katlı iplikçikler halinde bulunur. RNA veya DNA 'da virusların çoğalması için gerekli bilgiler (genler) bulunur.
- **Kapsid (Protein Kılıf):** Nükleik asidi çevreleyen protein yapısındaki katmandır. Kübik, sarmal veya kompleks simetri şekilde bulunabilir.

Kapsidin başlıca görevleri şunlardır:

- Nükleik asidi dış etkenlerden korur.
 - Virusun ilişki kurduğu hücreyle (konak hücreyle) bağlantı sağlar.
 - Virusun konak hücre dışında yaşamasına yardımcı olur.
 - Virusa antijenik özellik verir.
 - Virusun yapı simetrisini verir ve biçimini oluşturur.
 - Kapsid, kapsomer adı verilen daha küçük birimlerden oluşur ve bu birimler virusun tanımlanmasında önem taşır.
- **Zarf:** Bazı viruslarda bulunan kapsidi çevreleyen, lipidden zengin birkaç katmanlı bir zarf. Zarf içeren viruslar genellikle yuvarlak şekillidir. Zarfın, virusun konak hücreye girmesinde önemli rolü vardır.
 - **İnklüzyon Cisimcikleri:** Bazı viruslar; girdikleri hücre içindeki çekirdekte, stoplazmada ya da hem çekirdek hem stoplazmada cisimler oluşturur. Virusların teşhis edilmesinde önemli rolü olan bu cisimlere inklüzyon cisimciği denir. Örn: Kuduzda, stoplazmada negri cisimciklerinin görülmesi.



Resim 1.32: Kuduz virusu stoplazmasında negri cisimcikleri

1.4. Mikrobiyoloji Laboratuvarının Fiziki Yapısı

Mikrobiyoloji laboratuvarı kurulurken yerler ve bankoların (tezgâhların) yüzeyi kolayca silinip temizlenebilen malzemeden, pürüzsüz ve dezenfektanlardan etkilenmeyen nitelikte olmalıdır. Bankolar, rahat çalışılabilecek yükseklikte ve yeterli enlilikte olmalıdır. Duvarlar, fayans kaplanmalı veya silinip temizlenecek kalitede yağlı boya ile boyanmalıdır. Laboratuvarda kullanılacak tabure veya sandalyelerin yükselir ve alçalır türden olması çalışmayı kolaylaştırır. Elektrik tesisatı yapılırken uygun yerlere fazla sayıda priz konulmalı ve yeterli güçte elektrik sağlanmalıdır. Su musluklarının otomatik açılır-kapanır olması, kontaminasyonun önlenmesi açısından önemlidir.

Hem yeterli ve doğru hizmet vermek hem de güvenli çalışmak açısından mikrobiyoloji laboratuvarında aşağıdaki bölümlerin bulunması gereklidir.

- Hasta ve İnceleme Örnekleri Kabul Odası
- Hazırlık Bölümü Besiyeri
- Hazırlama Odası
- Bakteriyolojik İncelemeler Laboratuvarı
- Serolojik İncelemeler Laboratuvarı
- Mikolojik İncelemeler Laboratuvarı
- Virolojik İncelemeler Laboratuvarı

1.4.1. Hasta ve İnceleme Örnekleri Kabul Odası

Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen mikrobiyolojik inceleme örneklerinin belli bir bölümde teslim alınarak nitelik ve kimliklerinin saptandığı, kayıtlara geçirilerek bir laboratuvar numarasının verildiği, ilgili laboratuvar bölümlerine gönderildiği ve çıkan sonuçların kaydedildikten sonra sonuç raporlarının ilgililere verildiği bölümdür. Ayrıca laboratuvara doğrudan gelen hastalardan alınması gereken inceleme örnekleri, laboratuvar ilgilileri tarafından bu odada alınır. Bu odada koridora bakan bir başvuru penceresinin bulunması ile gönderilen örneklerin alınması ve raporların verilmesinin sağlanması, düzenli çalışma bakımından faydalıdır. Bu odanın hemen yanında idrar, dışkı ve ejakülat almak için kadın ve erkek tuvaletlerinin bulunması gereklidir.

1.4.2. Hazırlık Bölümü

Bu bölümde kirli odası, yıkama odası, sterilizasyon ve besiyeri odaları bulunmalıdır.

- **Kirli Odası:** Tüm laboratuvarlarda kullanılıp kirlenmiş malzemelerin temizlenmesi amacıyla toplandığı odadır. Özel toplama kaplarında gelen tüm malzemeler, direkt olarak otoklava konur. Sterilizasyon sonrası tüm mikroorganizmalardan arındırılmış, tek kullanımlık malzemeler, tıbbi atık toplama merkezine gönderilirken geri dönüşümü olan yeniden kullanılabilir cam ve benzeri malzemeler yıkama odasına aktarılır.
- **Yıkama Odası:** Kirli odasından gelen malzemelerin yıkanıp temizlendiği ve ambalajlanıp yeniden otoklavda steril edilerek analizlerde kullanmak üzere hazırlandığı odadır.

1.4.3. Besiyeri Hazırlama Odası

Mikrobiyolojik analizler için gerekli besiyerleri bu bölümde hazırlanır. Besiyeri hazırlamada kullanılan distile su, fizyolojik tuzlu su, eriyikler ve benzeri sıvılar ile hazırlanmış besiyerlerinin sterilizasyonun yapıldığı odadır.

Su bölümlerden oluşur:

- **Madde Dolabı:** Bu dolap sürgü kapaklı, yeteri kadar raflı olup içinde besiyeri hazırlamada kullanılan maddeler ile hazır kurutulmuş besiyerleri bulunur.
- **Tartma Yeri:** Maddelerin tartımında kullanılacak olan basit ve duyarlı terazilerin konulduğu, sabit ve sallanmaz nitelikte bir masadır. Bu masada pH ölçer aletinin de bulunması uygun olur.
- **Besiyeri Pişirme ve Dağıtım Yeri:** Bu bölüm yan duvar bankosu üzerinde düzenlenir. Büyük miktarda temel besiyerinin pişirilmesinde paslanmaz çelik kazan, az sayıda ise paslanmaz tencereler kullanılır. Çelik kazana, varsa bir dağıtım apareyi monte edilir. Besiyerleri özelliklerine göre otoklavda, pastör fırınında ve uygun filtrelerde steril edilir. Hazırlanmış besiyerleri kullanıma sunuluncaya kadar sürgü kapaklı, raflı bir dolapta ya da soğukta saklanması gerekenler bir buzdolabında stoklanarak saklanır. Besiyeri hazırlama odasında buhar fazla oluştuğundan bir vantilasyon sisteminin kurulması uygun olur.

1.4.4. Bakteriyolojik İncelemeler Laboratuvarı

Laboratuvarın işlevinin büyüklüğüne göre bir bakteriyoloji laboratuvarında bulunması düşünülen başlıca bölümler şunlardır;

- Genel bakteriyolojik incelemelerin yapılacağı ayrı bir banko veya oda,
- İdrar bakteriyolojisi için ayrılmış bir banko veya oda,
- Mikobakteriyoloji için ayrılmış bir banko veya oda,
- Antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılacağı ayrı bir banko veya oda,
- Karanlık alan mikroskopisi odası,
- Boyamaların yapıldığı bir boyama bankosu.

1.4.5. Serolojik İncelemeler Laboratuvarı

Günümüzde ağız ile pipet kullanımı bırakılmasına rağmen seroloji laboratuvarlarında uygulanan manipulasyonlar laboratuvar enfeksiyonlarının oluşması bakımından önemli bir yer tutar. Seroloji laboratuvarının bakteriyoloji laboratuvarı ile bir arada bulunması bu tehlikeyi daha da artıracığından seroloji laboratuvarlarının ayrı bir bölüm olarak kurulması zorunludur. Seroloji laboratuvarında kullanılan ölü bakteri ve inaktif virüs antijenlerinin bakteriyoloji ve viroloji laboratuvarlarında hazırlanmaları ve oradan serolojiye alınmaları gerekir.

1.4.6. Mikolojik İncelemeler Laboratuvarı

Mikoloji laboratuvarlarında aerojen enfeksiyonlar sözkonusu olduğundan ayrı bir bölüm halinde kurulur ve çalışmaların bir güvenlik kabini içinde yürütülmesi gerekir. Laboratuvarın vantilasyonu mutlaka sağlanmalı ve her gün çalışma sonrası 1 saat ultraviyole lambasıyla ortam steril edilmelidir.

1.4.7. Virolojik İncelemeler laboratuvarı

Viroloji laboratuvarlarının kurulması ve çalışmaların yürütülmesi pahalı olduğundan ancak belirli yerlerde kurulması yeterlidir.

Son zamanlarda, virolojik seroloji yöntemlerinin gelişmesi ve virüs enfeksiyonlarının tanısında önemli bir yer alması nedeniyle ayrı viroloji laboratuvarı kurulmaksızın seroloji laboratuvarında açılan bir virus serolojisi biriminde virolojik tanı deneyleri yapılmaktadır.

- **Doku Kültürü Odası:** Virüslerin üretiminde kullanılan doku kültürleri bu odalarda hazırlanır. Hava akımının olmaması amaçlandığı için laboratuvar içinde camekânla ayrılan küçük bir bölüm bu iş için yeterlidir.

1.5. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kullanılan Araç-Gereçler, Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

1.5.1. Araç-Gereçler

- Petri kutusu
- Tüpler
- Balon-Balon joje
- Erlen mayer
- Beher glass
- Lam-lamel
- Mezür (dereceli silindir kaplar)
- Pipetler
- Pastör pipeti
- Saat camı
- Cam baget
- Şişeler
- Sentetik besiyeri
- Eküvyon
- Öze
- Enjektör
- Vacutainer
- Turnike
- Lanset
- Tüp sporu
- Bek
- Sacayağı
- Amyantlı tel
- Cam kalemi
- Trowmel
- Pens
- Penset
- Makas
- Bistüri

- Amerikan bezi kılıflar
- Gazlı bez
- Pamuk
- Ambalaj kâğıdı
- Filtreler (süzgeç kâğıdı)
- Küvetler
- İnce tel
- Tel fırçalar
- Parafilm
- Spatül
- Drigalski spatülü
- İndikatör otoklav bandı
- Otoklav poşetleri
- Çeşitli ebatlarda metal otoklav kovaları
- Çeşitli ebatlarda atık kovaları
- Otoklavda sterilizasyona dayanıklı kapaklı atık kovaları
- Süzdürme sepetleri
- Etiket

1.5.2. Kimyasal Maddeler

- Çözeltiler
- Boyalar
- Dezenfektanlar
- Antiseptikler

1.5.3. Cihazlar

- Mikroskop
- Otoklav
- Pastör fırını
- Benmari
- Koch kazanı
- Etüv
- Güvenlik kabini
- Distile su cihazı
- Santrifüj
- Terazi-Hassas terazi
- Buzdolabı
- Mikro-insineratör
- Worteks tüp karıştırıcı

1.6. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Uyulması Gereken Kurallar

- Çalışmalar sırasında mutlaka önlük ve eldiven giyilmeli, gerekirse gözlük, bone takılmalı ve galoş giyilmelidir.

- Çalışma sırasında giyilen önlükle laboratuvar dışına çıkılmamalı, önlük ve dış giyim eşyaları aynı dolaba konmamalıdır.
- Mikrobiyoloji laboratuvarında, çalışmalarda kullanılan bütün malzemeler steril olmalıdır
- Çalışma yüzeyleri düz olmalı, kolayca temizlenip dezenfekte edilebilmelidir.
- Çalışmalar her zaman güvenlik kabiniinde, eğer güvenlik kabini yoksa bek alevi altında yapılmalıdır.
- Steril edilmiş, ağzı pamuk ya da kapak ile kapatılmış cam eşyalar hem açılırken hem de kapatılırken alevden geçirilmelidir.
- Özeler, kullanmadan önce ve kullandıktan sonra akkor haline gelinceye kadar alevde yakarak steril edilmelidir.
- Çalışma bittikten sonra kullanılmış bütün kirli malzemeler; tüp, erlen, beher, balon, pipet, ekim yapılmış petri kutusu, lam, lamel vb. cam malzemeler ile inceleme için alınan mikrobiyolojik hasta örnekleri ve örnek kapları özel toplama kaplarına konulmalı, kesinlikle çalışma masası üzerinde unutulmamalıdır.
- Özel kaplarda toplanan kirli malzemelerin hepsi önce otoklavda steril edilmelidir.
- Kültür sıvıları kesinlikle lavabolara dökülmemeli, bu sıvılar mutlaka içinde dezenfektan bulunan kaplara dökülmelidir.
- Bulaşıcı ve toksik maddelerle çalışırken su geçirmez eldiven giymeli ve gerekli ise gözlük kullanılmalıdır.
- Bulaşıcı ve toksik maddelerle, mikroorganizma kültürleri ile çalışma sırasında pipet ağız ile kullanılmamalı, pipetler kullanılmadan önce ağız kısımlarına pamuk yerleştirilerek steril edildikten sonra puarla birlikte kullanılmalı ya da otomatik pipet kullanılmalıdır.
- Ekim yapılmış tüp ve petri kutuları açık olarak masa üzerinde bırakılmamalıdır.
- Petri kutularının kapakları, özenin girebileceği kadar açılmalıdır.
- Mikrobiyolojik örneklere ait bilgiler ya cam kalemiyle yazılmalı ya da kendiliğinden yapışan etiketler kullanılmalıdır. Etiketler asla dil ile ıslatılmamalıdır.
- Çalışırken kapı ve pencereler kapalı tutulmalıdır.
- Yüksek sesle konuşulmamalı, gereksiz ve ani hareketlerden kaçınılmalıdır.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarını tanıyabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Tıbbi mikrobiyolojinin amacını kavrayınız.	➤ Tıbbi Mikrobiyolojinin konusunu unutmayınız, ➤ Tıbbi Mikrobiyolojinin dallarını hatırlayınız.
➤ Mikroorganizmalar hakkındaki bilgileri kavrayınız.	➤ Mikroorganizmaların adlandırılmasına yönelik örnekleri araştırınız, ➤ Mikroorganizmaların sınıflandırma örneklerini inceleyiniz, ➤ Bakterilerin morfolojik yapısını şemalar üzerinde inceleyiniz, ➤ Bakterilerin hücre yapısını hatırlayınız, ➤ Virusların yapısını, şemalar üzerinde inceleyiniz, ➤ Mantarların hücre yapısını, şemalar üzerinde inceleyiniz, ➤ Riketsiyaların yapısını, şemalar üzerinde inceleyiniz, ➤ Mikoplazmaların yapısını, şemalar üzerinde inceleyiniz, ➤ Klamidyaların yapısını, şemalar üzerinde inceleyiniz, ➤ Protozoonların yapısını, şemalar üzerinde inceleyiniz.
➤ Mikrobiyoloji laboratuvarının fiziki yapısını tanıyınız.	➤ Hastane mikrobiyoloji laboratuvarının bölümlerini geziniz.
➤ Mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan araç-gereçler, kimyasal maddeler ve cihazları tanıyınız.	➤ Hastane mikrobiyoloji laboratuvar çalışmalarını izleyiniz.

➤ Mikrobiyoloji laboratuvarında uyulması gereken kuralları kavrayınız.

- Çalışmalar sırasında, mutlaka önlük ve galos giymeniz gerektiğini unutmayınız.



- Yapılan işe uygun eldiven giymeniz gerektiğini unutmayınız,
➤ Yapılan işe uygun maske ve gözlük takmanız gerektiğini unutmayınız,



- Çalışma yüzeylerinin, her çalışma öncesi ve çalışma bitiminde dezenfektanlarla temizlenmesi gerektiğini unutmayınız,
➤ Mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılacak tüm malzemelerin sterilliğini, daima çalışma öncesi kontrol etmeniz gerektiğini unutmayınız,
➤ Pipetleri, kesinlikleri ağızda kullanmayıp otomatik pipet ya da puar takarak kullanmanız gerektiğini unutmayınız,
➤ Metal özeleri, kullanım öncesi ve sonrası bek alevinde yakmanız gerektiğini unutmayınız,
➤ Çalışma bitiminde, tüm kirli malzemeleri özel toplama kaplarına atmanız, kesinlikle çalışma bankosu üzerinde bırakmamanız gerektiğini unutmayınız,
➤ Çalışırken laboratuvar kapı ve pencerelerini daima kapalı tutmanız gerektiğini hatırlayınız,
➤ Yüksek sesle konuşmamanız, gereksiz ve ani hareketlerden kaçınmanız gerektiğini hatırlayınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

- Boyları enlerinden fazla olan, genellikle çomak şeklindeki bakterilere ne ad verilir?
A) Spiraller
B) Koklar
C) Spiroketler
D) Basiller
E) Sarsinler
- Bakterinin orta kısmında yer alan, yumak halinde bir tek kromozomdan meydana gelen ve genetik özellikleri taşıyan oluşum, aşağıdakilerden hangisidir?
A) Stoplazmik membran
B) DNA
C) Bakteri zarı
D) Bakteriyofaj
E) Fimbria
- Aşağıdakilerden hangisi, stoplazmik zarın görevlerinden sayılmaz?
A) Hücre içi ozmotik basıncı ayarlar.
B) Solunum işlevi bu zarda meydana gelir.
C) Bakteriye antijenik özellik kazandırır.
D) Selektif permeabilite özelliği vardır.
E) Duyusal reseptörleri taşır.
- Bakteri sporları ile ilgili ifadelerden hangisi yanlıştır?
A) Bakterinin üreyip gelişmesiyle ilgilidir.
B) Bakterinin üremesiyle ilgisi yoktur.
C) Bakteriler için uygun olmayan şartlarda stoplazmada oluşur.
D) Sporlu bakteri, bir bakıma dinlenme halindedir.
E) Sporun; bakteri içindeki yeri, şekli ve büyüklüğü bakterinin tanınmasında önemlidir.
- Bakterilerden daha ilkel daha basit yapıda, tam bir hücre yapısı göstermeyen, sentetik besiyerinde üretilmeyen, sadece canlı hücre içinde üreyen mikroorganizma, aşağıdakilerden hangisidir?
A) Mantarlar
B) Riketsiyalar
C) Mikoplazmalar
D) Klamidyalar
E) Viruslar

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırmız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle mikrobiyolojik analizlerde kullanılacak araç-gereçleri tekniğine uygun sterilizasyona hazırlayabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Mikrobiyoloji laboratuvarına giderek sterilizasyon yöntemleri hakkında bilgi ediniz.
- Mikrobiyoloji laboratuvarına giderek sterilizasyon amacıyla kullanılan cihazları ve çalışma prensiplerini araştırınız.
- Mikrobiyoloji laboratuvarına giderek araç-gereçlerin ambalajlanarak sterilizasyona hazırlama işlemlerini gözlemleyiniz.

2. MİKROBİYOLOJİK ANALİZLERDE KULLANILACAK ARAÇ-GEREÇLERİ STERİLİZASYONA HAZIRLAMA

Mikrobiyoloji laboratuvarında yapılan tüm çalışmalar sırasında hem ortamın hem de analizlerde kullanılacak araç-gereçlerin mutlaka steril olması gerekir. Bu nedenle laboratuvara girişi yapılan ve steril olmayan tüm malzemeler önce ambalajlanır sonra malzemelerin türüne uygun sterilizasyon yöntemleriyle steril edilerek kullanıma hazır hale getirilir.

2.1. Sterilizasyonla İlgili Terimler

- **Sterilizasyon:** Bir ortam veya maddede bulunan bütün mikroorganizmaların her türlü canlı, aktif ve spor şekillerinin tamamen yok edilmesi işlemidir.
- **Steril:** Sterilizasyon işlemi sonucu mikropsuz hale gelen madde veya cisme denir.
- **Kontaminasyon:** Steril olan bir ortama mikroorganizma bulaşmasına denir.
- **Kontamine:** Kirli, enfekte anlamındadır.
- **Dezenfeksiyon:** Kimyasal maddeler kullanarak bir cismin ya da maddenin patojen (hastalık yapıcı) mikroorganizmalardan arındırılması işlemidir.
- **Antisepsi:** Canlı doku yüzeyindeki (deri, mukoza, yara gibi) patojen mikroorganizmaların, kimyasal maddeler kullanılarak öldürülmesi işlemidir.
- **Antiseptik:** Antisepsi işleminde kullanılan kimyasal maddelere denir.

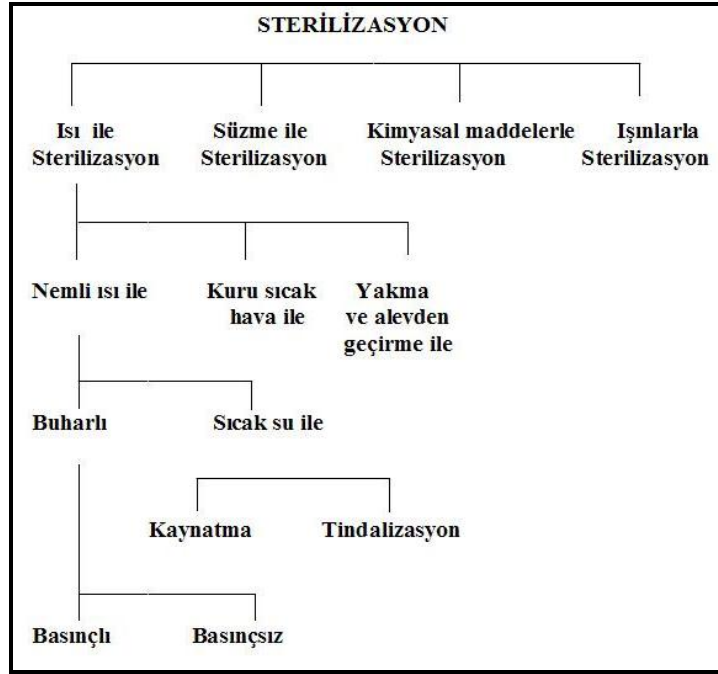
- **Dezenfektan:** Dezenfeksiyon işleminde kullanılan kimyasal maddelere denir.
- **Bakteriyostatik (Mikrobiyostatik):** Bakterilerin üremesini durdurucu kimyasal maddeye denir. Bakteriyostatik etki ortadan kalktığında ve bakteri, uygun ortama ekildiğinde, yeniden üreyip çoğalabilir. Bu nedenle bakteriyostatik etki geri dönüşlüdür.
- **Bakterisit (Jermisit, Mikrobisit):** Bakterileri öldürücü etki gösteren madde ve etmenlere denir. Bakterisit etki geri dönüşlü değildir, uygun ortamda dahi üreyemez.
- **Virüsit:** Virüsleri öldürücü etki yapan madde ve etmenlere denir.
- **Fungusit:** Mantar öldürücü etmenlere denir.
- **Fungustatik:** Mantarların üremesini durdurucu kimyasal maddeye denir.
- **Asepsi:** Eşyaların ve yaraların mikroorganizmalarca kontaminasyonlarını önlemeye yönelik tüm işlemlere denir.
- **Aseptik:** Bir ortamın mikroorganizma içermemesidir.
- **Septik:** Bir ortamın mikroorganizma içermesidir.
- **Sepsis:** Patojen mikroorganizmaların canlı dokuda üreyip yayılmalarıdır.
- **Septisemi:** Mikroorganizmaların ya da toksinlerinin kan dolaşımına geçmesi sonucu oluşan, ateş ve titreme ile gelişen durumdur.
- **Bakteriyemi:** Bakterilerin kanda bulunması halidir, burada kan dolaşıma katılmamıştır. Kan, bakteriler için sadece geçiş yoludur.
- **Viremi:** Virüslerin kanda bulunması halidir.
- **Riketsiyemi:** Riketsiyaların kanda bulunması halidir.
- **Piyemi:** Daha çok irin oluşturuç mikroorganizmaların çeşitli bölgelere yerleşerek lokalize abseler oluşturmaları ve kanda bulunmaları durumudur.
- **Fumigasyon:** Mikroplu bölge veya malzemeyi, antiseptik etkiye sahip madde buharları ile dezenfekte etmektir. Özellikle kükürt bu amaçla kullanılır.
- **Pastörizasyon:** Genellikle süt- süt ürünleri ile meyve sularına uygulanan belli ısı derecelerinde yapılan dezenfeksiyon işlemidir.

2.2. Sterilizasyon Yöntemleri

Sterilizasyon, dezenfeksiyon ve antisepsi kurallarının bilinmesi ve uygulanması tıbbın tüm dallarında yapılan çalışmalarda temel unsurdur. Sterilizasyon işleminde patojen mikroorganizmalar, sporlu bakteriler, mikobakteriler, zarfsız virüsler, kist ve mantarlar dahil mikroorganizma çeşitlerinin tamamı öldürülür.

Otoklav, pasteur fırını, etüv, benmari vb. gibi cihazlardan yararlanarak sterilizasyon yapılır. Kullanılan bu cihazlara, sterilizatör adı verilir. Her sterilizatörün kendine özgü çalışma sistemi vardır.

Sterilizasyon yöntemleri, sterilizatörlerin etki mekanizmasına ve steril edilecek malzemelerin yapısına göre değişir. Sterilizasyon yöntemleri aşağıdaki şemada gösterildiği gibi gruplandırılır.



Şekil 2.1: Sterilizasyon Yöntemleri

2.2.1. Isı ile Sterilizasyon

Yapılması kolay ve ucuz olduğundan ve iyi sonuç verdiği için sterilizasyonda en çok ısı kullanılır. Yalnız, steril edilecek malzemenin ısıya dayanıklı olması gerekir.

Isı ile sterilizasyonu etkileyen bir takım faktörler vardır. Bunlar:

- Isı ile sterilizasyonda ısı derecesi çok önemlidir, “ısı ne kadar yüksek olursa” mikroorganizmalar üzerinde olan etki de o oranda fazla olur.
- Belli ısı derecesinde tutma süresi ne kadar uzarsa sterilizasyonun etkisi o kadar artar.
- Ortamdaki nem arttıkça ısının etkisi de artar; nem ortamında düşük ısıda dahi kısa zamanda çok iyi sterilizasyon yapılır.
- Mikroorganizmalar içindeki su miktarı önemlidir. En az %50 su bulunması gerekir ki içindeki protein koagüle olabilsin. Su miktarı %50 den az olursa mikroorganizmaların direnci artar. Nitekim sporlu bakterilerde su oranı az olduğu için ısı ile sterilizasyona daha dirençlidir.
- Ortamın pH'nın nötrden uzaklaşması asit ve alkaliliği artırır. Asit ya da baz ortamında ısının etkisi de artar.
- Osmotik basıncın çok olması mikroorganizmanın hücre suyunun azalmasına neden olur ve olumsuz yönde etkiler. Yani, hücre su kaybederek hücrenin büzülmesine ve ölümüne neden olur.
- Objelerin temizliği; organik ve inorganik maddenin varlığı önemlidir.

- Mikroorganizmanın ortamda çok ya da az miktarda oluşu ve patojenliği etkendir.

2.2.1.1. Nemli Isı ile Sterilizasyon

Buharla ve sıcak suyla olmak üzere iki şekilde yapılır.

- **Buharla Sterilizasyon:** İyi bir sterilizasyon için su baharı sıcak havadan daha elverişlidir. Zira buharın öldürücü etkisi daha fazladır ve eşyayı daha çabuk ısıtır. Ayrıca su buharının pamuk, yün, kumaş, kâğıt ve diğer kirli maddelere nüfusu daha kolaydır. Buharla sterilizasyon işlemi, özellikle besiyerleri ve çözeltiler için çok uygundur. Ortam yeteri kadar buharlı olduğundan ısınma esnasında steril edilecek sıvılardan buharlaşma ile su kaybı da olamaz. Basıncılı ve basınçsız buharla olmak üzere iki şekilde uygulanır.
 - **Basıncılı Buharla Sterilizasyon:** Basınç altında doymuş su buharı, steril edilen malzemelerin en iç kısımlarına, kat aralıklarına kadar nüfuz eder. Bu amaçla otoklav adı verilen cihaz kullanılır.
 - **Basınçsız Buharla Sterilizasyon:** Buharla doymuş bir ortamda 100 °C'de ve basınçsız olarak yapılan sterilizasyondur. Bu amaçla Koch kazanı ya da kapağı sıkı kapatılmayan otoklavlar kullanılır. 100 °C'de yarım saat tutmak suretiyle sterilizasyon yapılır. Burada; 100 °C'nin üzerinde bozulabilen araç-gereçler, bazı besiyerleri ve solüsyonlar steril edilir. Sterilizasyon süresi, kapağın kenarlarından doymuş buhar 100 °C'ye çıktığı andan itibaren başlatılır.
- **Sıcak Su ile Sterilizasyon:** Tindalizasyon ve kaynatma yöntemi olmak üzere iki şekilde yapılır.
 - **Tindalizasyon:** Yüksek ısı derecelerinde bozulan maddeler için kullanılan bir yöntemdir. En az üç gün arka arkaya belli sıcaklıkla tutmak suretiyle sterilizasyon işlemi yapılır. Bu amaçla benmari adı verilen cihaz kullanılır.
 - **Kaynatma:** Basınçsız buhar sterilizasyonunun kullanıldığı amaçlar için uygulanabilir. Daha çok sterilizatörün bulunmadığı kırsal kesimlerde uygulanır. Bu sterilizasyonda herhangi bir metal kapaklı kap kullanılır. Kaynatma ile sterilizasyon, 100°C'de 30 dakika tutmak suretiyle yapılır. Burada dikkat edilecek nokta steril edilecek malzemenin tamamının, su içine batırılmış olmasıdır. Açıkta kalan yüzeye su temas etmediği takdirde, o yüzeydeki mikroorganizmalar yok edilemez. Burada dayanıklı cam malzemeler ile metal/pens, penset, bistürü, makas gibi malzemeler steril edilir. Sterilizasyon süresi bittikten sonra malzemeler suyun içinden steril pens yardımı ile çıkartılır. 100°C de 5-10 dakika kaynatmakla bakterilerin vegetatif şekilleri ve bazı bakterilerin spor şekilleri ölür. Fakat kaynatma işlemi, her zaman iyi bir sterilizasyon temin etmez.

2.2.1.2. Kuru Sıcak Hava ile Sterilizasyon

Kuru sıcak hava akımı altında sterilizasyon yapılır. Cam, balon, petri kutusu, pipet ve cam şişeler gibi cam eşyanın sterilizasyonu için en uygun metottur. Bu amaçla Pasteur Fırını (Kuru Sıcak Hava Fırını) adı verilen cihaz kullanılır.

2.2.1.3. Yakma ve Alevden Geçirme (Flambaj) ile Sterilizasyon

Alevde tutulduğunda bozulmayan iğne, öze vb. madeni aletler kızıl dereceye gelinceye kadar alevde yakarak steril edilir ve soğutulduktan sonra kullanılır. Pens, penset uçları, tüp, balon vb. gibi cam malzemelerin ağız kısımlarının bek alevinden üç, dört defa geçirilmesi ve lam ve lamellerin aleve yalıtılmasıyla sterilizasyon yapılır.

2.2.2. Süzme (Filtrasyon) ile Sterilizasyon

Sıvı bir ortamda bulunan mikropları süzmek suretiyle süzüntüye geçmelerini önlemek ve bu suretle sıvıları steril etmek esasına dayanır. Bu amaç için özel süzgeçler (filtreler) kullanılır. Özellikle ısı ve kimyasal etmenlerle bozulan maddelerin ve serumların sterilizasyonunda ayrıca toksin ve diğer mikrop ürünlerini elde etmede kullanılır.

2.2.3. Kimyasal Maddelerle Sterilizasyon

Dezenfektan ve antiseptik adı verilen çeşitli kimyasal maddeler kullanılarak gerçekleştirilir. Daha çok patojen mikroorganizmaların kontrol altına alınması için yapılır.

2.2.4. Işınlarla Sterilizasyon

Isı, süzme ve kimyasal madde ile steril edilemeyen maddelerin sterilizasyonunda kullanılır. Laboratuvarlarda, ışınlarla yapılan sterilizasyonun uygulama alanı sınırlıdır.

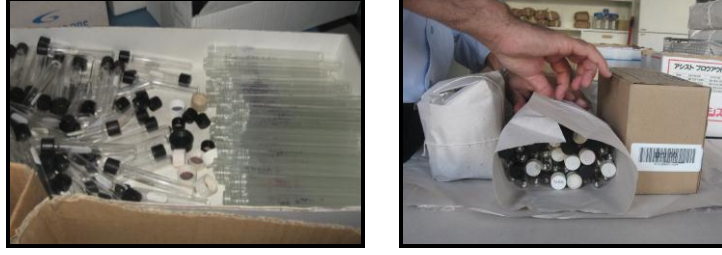
2.3. Araç-Gereçlerin Sterilizasyona Hazırlanması

Sterilizasyona başlamadan önce, steril edilecek araç-gereç ve ekipmanın ambalajlanması gerekir. Bu sayede steril edilen malzemelerin sterilitesinin kullanılınca kadar uzun süre muhafaza edilmesi sağlanır.

2.3.1. Araç-Gereçlerin Ambalajlanması

Laboratuvarında, kutusundan henüz çıkarılmış, hiç kullanılmamış araç-gereçler ile kullanılmış geri dönüşümlü kirli cam malzemeler, otoklavda steril edilip mikroorganizmalardan arındırılır ve mekanik temizliği yapıp kurutulduktan sonra tekniğine uygun şekilde ambalajlanır.

- **Deney Tüplerinin Hazırlanması:** Yıkayıp kurutulmuş deney tüplerinin ağız kısmı, elle tutup çıkarılabilecek şekilde pamuk tıkaçla veya özel plastik kapak ya da burgulu kapakla kapatılır. Malzemeler metal kutulara yerleştirilir ya da 5'li,10'lu gruplar halinde ve gevşek olmayacak şekilde ambalaj kâğıdına sarılarak paketlenip iple bağlanır. Son olarak paketler üzerine sterilizasyon indikatör bandı yapıştırılarak sterilizasyona hazır hale getirilir.



Resim 2.1: Plastik kapaklı tüpler ve paketlenmesi

- **Pipetlerin Hazırlanması:** Yıkayıp kurutulmuş pipet uçlarının tıkalı olup olmadığı kontrol edilir. Tıkalı olan pipet uçları açılır ve pipetlerin ağız kısımları tele sarılmış pamukla tıkaçlanır. Metal kutulara yerleştirilerek ya da tek tek veya gruplar halinde ambalaj kâğıdına sarıldıktan sonra paketler iple bağlanır. Pipet paketi üzerine sterilizasyon indikatör bandı yapıştırılarak sterilizasyona hazır hale getirilir.
- **Petri Kutularının (Plakların) Hazırlanması:** Yıkayıp kurutulmuş cam petri kutuları çatlak-kırık- kirlilik yönünden kontrol edilir. Metal kutulara yerleştirilerek ya da kapakları üste gelecek şekilde 4'lü ya da 6'lı gruplar halinde üst üste dizilip ambalaj kâğıtlarına sarıldıktan sonra paketler iple bağlanır. Paket üzerine indikatör bandı yapıştırılarak sterilizasyona hazır hale getirilir.



Resim 2.2: Petri kutularının ambalaj kâğıtlarına sarılması

- **Erlenmayer, Beherglas, Mezür, Balon, Balon Joje ve Şişelerin Hazırlanması:** İçi boş olan ya da besiyeri, çözelti konmuş bu tür cam malzemelerin ağız kısmına rulo yaparak ve gevşek olmayacak şekilde gazlı beze sarılmış pamuk tıkaç konur ve üzeri alüminyum ya da ambalaj kâğıdıyla sarıldıktan sonra paketler iple bağlanır. Paketin üzerine sterilizasyon indikatör bandı yapıştırılarak sterilizasyona hazır hale getirilir.



Resim 2.3: Ambalajlanmış tüp, pipet, erlen vb. malzeme paketleri ve kapaklı çözelti şişeleri

- **Pamuk ve Sargı Bezi Hazırlanması:** Trowmel adı verilen metal kapların içine konarak steril edilir. Burada önemli olan nokta şudur; trowmel yan delikleri açık olarak otoklava konur, sterilizasyon bitiminde dış ortamda kontaminasyonu önlemek amacıyla hemen yan delikleri kapatılır.



Resim 2.4: Trowmel

- **Diğer Tıbbi Malzemelerin Hazırlanması:** Makas, bistüri, süzgeç, pens, penset vb. aletler amerikan bezinden yapılmış kılıflara ya da ambalaj kâğıtlarına sarıldıktan sonra paketler iple bağlanır. Paketin üzerine sterilizasyon indikatör bandı yapıştırılarak sterilizasyona hazır hale getirilir.



Resim 2.5: Malzemelerin ambalaj kâğıtlarına sarılması



Resim 2.6: Amerikan bezine sarılan malzemelerin (bohçaların) sterilizasyona gönderilmesi

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda, araç-gereçleri sterilizasyona hazırlayabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Kişisel koruyucu önlemleri alınız.	➤ Önlük, galoş ve uygun eldiven giyiniz, ➤ İşe uygun maske ve gözlük takınız, ➤ Bankoların temizliğini kontrol ediniz, ➤ El antiseptisini uygulayınız,
➤ Temizlenmiş ve yıkanıp kurutulmuş tüm malzemeleri banko üzerine koyunuz.	➤ Kirli malzemeleri deterjanlı suda fırçalayarak yıkayınız,
➤ Deney tüplerinin ağız kısımlarını, yağlı pamuk tıkaçla veya özel plastik kapak ya da burgulu kapakla kapatılarak metal kutulara yerleştirip veya gruplar halinde ambalaj kâğıdına sarıp iple bağlayınız.	➤ Deney tüplerinin ağız kısımlarına, elle tutup çıkarılabilecek şekilde pamuk tıkaçları yerleştiriniz, ➤ Deney tüplerini 5'li veya 10'lu gruplar halinde ve gevşek olmayacak şekilde ambalaj kâğıdına sarınız.
➤ Pipetleri, metal kutulara yerleştiriniz veya ambalaj kâğıdına sararak iple bağlayınız.	➤ Pipet uçlarının tıkalı olup olmadığı kontrol ediniz, ➤ Pipetleri, uçlarının açılması için bikromat sülfürik asitli eriyikte bekletiniz, ➤ Pipetleri tek tek ya da gruplar halinde ambalaj kâğıdına sarınız.
➤ Petri kutularını kapakları üste gelecek şekilde üst üste dizerek metal kutulara yerleştiriniz veya ambalaj kâğıdına sararak iple bağlayınız.	➤ Cam petri kutularının çatlak-kırık olup olmadığını kontrol ediniz, ➤ Petri kutularını 4'lü ya da 6'lı gruplar halinde ambalaj kâğıdına sarınız.
➤ Bu malzemelerin ağız kısmına gevşek olmayacak şekilde gazlı beze sarılmış pamuk tıkaç koyup ve üzerini alüminyum ya da ambalaj kâğıdıyla sardıktan sonra paketleri iple bağlayınız.	➤ İçlerine besiyeri, çözelti konmuş bu tür cam malzemeleri de aynı şekilde seril ediniz.
➤ Pamuk ve sargı bezlerini trowmel içine koyup trowmelin yan deliklerini açık bırakarak steril ediniz.	➤ Trowmelin sterilizasyon bitiminde yan deliklerini kapatınız.
➤ Bu aletleri amerikan bezinden yapılmış kılıflara ya da ambalaj kâğıtlarına sarıldıktan sonra iple bağlayınız.	➤ Bütün paketlerin üzerine indikatör bandı yapıştırarak sterilizasyona gönderiniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi, canlı mikroorganizmadan arındırılmış anlamındadır?
A) Septik
B) Steril
C) Mikrobisid
D) Sepsis
E) Dezenfektan
2. Sporlular da dâhil, mikroorganizmaların tüm şekillerinin öldürülmesi işlemi aşağıdakilerden hangisidir?
A) Sterilizasyon
B) Dezenfeksiyon
C) Pastörizasyon
D) Liyofilizasyon
E) Fumigasyon
3. Aşağıdakilerden hangisi, otoklav ile yapılan sterilizasyon yöntemidir?
A) Kaynatma
B) Sıcak su banyosu
C) Kuru sıcak hava
D) Alevden geçirme
E) Basınçlı su buharı
4. Aşağıdakilerden hangisi, sterilizasyona gönderilen paketlerde bulunur ve sterilizasyonun tam olarak yapılıp yapılmadığını gösterir?
A) Plak
B) Amerikan bezi
C) İndikatör bandı
D) İzole band
E) Trowmel

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-3

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle basınçlı buharla sterilizasyonu tekniğine uygun yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Hijyen kuralları, el ve vücut temizliği ile mikroorganizma ve hastalıklar arasındaki bağlantıyı araştırınız, tartışınız.
- Bulduğunuz ilde merkez sterilizasyon ünitesine ya da tıbbi laboratuvarlara giderek araç gereçlerin sterilizasyona hazırlanışını inceleyiniz.
- Otoklav hakkında bilgi edinerek arkadaşlarınızla paylaşınız.

3. BASINÇLI BUHARLA STERİLİZASYON

Mikrobiyoloji laboratuvarında sterilizasyon amacıyla **en çok kullanılan ve en güvenilir** yöntem, basınçlı buharla yapılan sterilizasyondur.

3.1. Basınçlı Buharla Sterilizasyon

Diğer yöntemlere göre en iyi sterilizasyon yöntemidir. Bu amaç için **otoklav** adı verilen cihaz kullanılır. Otoklavda basınç altındaki doymuş su buharı, steril edilen malzemelerin en iç kısımlarına, kat aralıklarına kadar nüfuz eder. Etki mekanizması, doğrudan doğruya mikroorganizmaların proteinlerini koagüle ederek ve protein yapısını bozarak gerçekleşir. Böylece mikroorganizmaların tüm formları öldürülmüş olur. Bu özelliklerin yanı sıra birçok kullanım avantajları da vardır. Uygulaması kolay ve ucuzdur. Toksik ve kanserojen etkisi yoktur. Kullanım alanı geniş, etkili ve güvenilir bir yöntemdir.

➤ Otoklav

Basınçlı su buharı ile doymuş bir ortamda genel olarak;

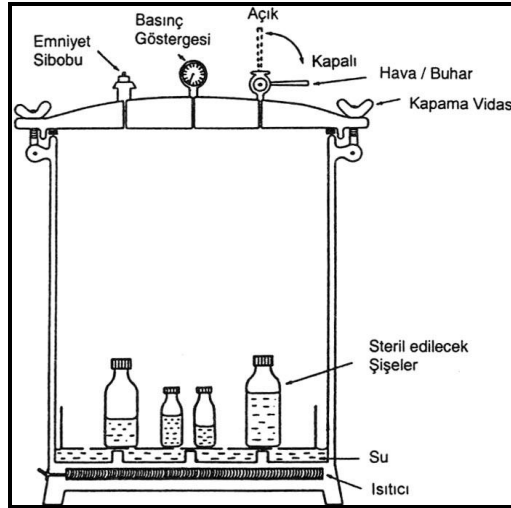
- 135 °C’de 3 dakika 2 atmosfer basınç,
- 121 °C’de 15 dakika, 1 atmosfer basınç,
- 115 °C’de 30 dakika, yarım atmosfer basınç altında bekletilerek sterilizasyon yapılır.

Kuru sıcak hava ile bozulabilecek, kumaş, elbise, önlük, kauçuk gibi materyaller, seyreltme kapları, işi biten enfekte materyaller, besiyeri, çözeltiler, cam ve metal malzemeler steril edilir. Ortamın nemli olmasından dolayı çözelti ve besiyerlerinden su kaybı olmaz.

Otoklavların küçük-büyük, yuvarlak-kare-dikdörtgen, klasik-gelişmiş gibi çeşitli modelleri vardır. Hepsinin çalışma prensipleri ve işlevleri aynıdır. En basit şekliyle ve çalışma prensibi yönünden düdüklü tencereye benzer.

Otoklavın bölümleri:

- Otoklavlar genellikle iç içe iki çelik kazandan yapılmıştır.
- İçteki kazan, malzemenin suyla temas etmesini engeller.
- Bu kazan üzerinde buharın gideceği delikler bulunur.
- Otoklavlar elektrikle çalışan rezistansları sayesinde suyu ısıtır.
- Otoklavlarda, hava ve buhar çıkmasını sağlayan bir musluk, vidalı kapak, manometre basınç göstergesi, termostat, termometre ve emniyet subabı vardır.



Şekil 3.1: Otoklavın bölümleri



Resim 3.1: Otoklavın kapalı ve açık görünümü

3.2. Araç-Gereçlerin Basıncı Buharla Sterilizasyonu

Laboratuvarda kullanılan araç-gereçlerin çoğu otoklavda basınçlı buharla steril edilir.

3.2.1. Otoklavda Sterilizasyon

- Önce otoklavın içindeki su kontrol edilir. Steril edilecek malzemeler, otoklav sepetine, birbirine değmeyecek şekilde yerleştirilir.
- Kapak sıkıca kapatılır, vidalar sıkıştırılır.
- Üst musluk açılır, supap bir atmosfere ayarlanır.
- Isıtıcı açılır. Su ısındıkça; açık musluktan hava, havayla karışık buhar, sonra sadece buhar çıkar. Bu anda musluk kapatılır. Musluk kapatıldıktan sonra manometrede basınç yükselir. Termometrede ise ısı yükselmeye başlar.
- Basınç, 1 atmosfer basınca, ısı da 121°C'ye gelince, sterilizasyon süresi başlatılır. Sterilizasyon yapılırken termometredeki ısı gözlenir.
- 15 dakikalık süre tamamlanınca otoklav kapatılır. Kapak hemen açılmaz.
- Basınç sıfıra düşünce, kapak açılır. Basınç yüksekken otoklav kapağı açılırsa içindeki sıvıların ısısı, 100°C'nin üstünde olduğundan basıncın kalkması ile birlikte sıvılar kaynamaya başlar ve tıkaçlarını atabilir. Aynı zamanda sıcaklık ve basınç sıfıra düşünce de kapak açılmazsa soğuyan su buharı yoğunlaşarak su haline geleceğinden otoklav içerisinde negatif basınç (vakum) oluşur. Bu durumda da sıvılarda kaynama olur. Bu nedenle otoklav soğuduktan sonra, içindeki steril edilen malzemeler boşaltılır.

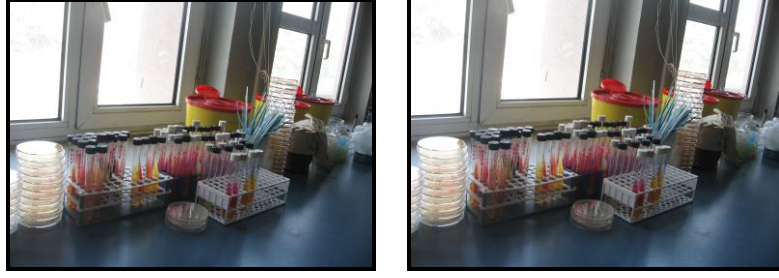


Resim 3. 2: Çalışır durumda otoklav ve göstergesi

- Steril malzemeler buzdolabında ya da soğuk odalarda saklanır.



Resim 3.3: Steril malzemelerin soğuk odada saklanması



Resim 3.4: Steril tüp besiyeleri ve petri kutuları

3.2.1.1. Otoklavda Etilen Oksitle Sterilizasyon

Etilen oksit, saf halde tahriş edici ve patlayıcı olduğundan karbondioksit veya ozonla karıştırılarak kullanılır. 10.8°C'nin altında sıvı, bunun üstünde ise gaz şeklindedir. Etilen oksit mikrobisid etkiye sahiptir. Virüsler, mantarlar ve yüksek ısıya dayanıklı sporlu bakterileri dahi öldürür. Mikroorganizmaların proteinlerini denatüre eder, stoplazmik zarın işlevini, enzimlerin aktivasyonunu bozar.

Etilen oksit sterilizasyonu, otoklav veya benzeri cihazlarda yapılır. Otoklavın büyüklüğüne göre 450–750 mg/L etilen oksit kullanılır. 55–60°C'de 2 saat süreyle, steril edilecek malzemeler cihazda tutulur. Bu yöntemle, ısıya dayanıksız polietilen, plastik, kauçuk aletler steril edilir. Steril edilecek malzemeler öncelikle naylon kapla hava almayacak şekilde ambalajlanır. Daha sonra otoklav içine yerleştirilir. Burada malzemeler kumaşa sarılmaz.

Etilen oksit otoklavı çalıştırılırken uyulması gereken kurallar şunlardır:

- Steril edilecek malzemeler, aralıklı olarak gaz kolayca geçecek şekilde otoklav içine yerleştirilir.
- Otoklavın kapağı sıkıca kapatılarak içerdeki hava vakumla boşaltılır.
- İstenilen nemi sağlayacak kadar buhar otoklava salınır.
- İstenilen miktar kadar etilen oksit gazı salınır.
- Gerekli ısı sağlanacak kadar otoklav ısıtılır ve zaman ayarlaması yapılır.
- Bu süre sonunda otoklav içindeki gazın tamamı vakumla boşaltılır ve normal basınç elde edinceye kadar steril hava verilir.

3.2.2. Otoklavda Yapılan Sterilizasyonun Kontrolü

Sterilizasyon kontrolü mevcut indikatörlerden birinin kullanılması ve test edilmesi sonucu anlaşılır.

Bu amaçla kullanılan indikatörler şunlardır:

- **İndikatör Bant:** Renk değiştiren ilaçlı yapışkan bant olup paketler üzerine yapıştırılır. Bandın ısı ile etkileşerek koyu renge dönüşmesi, sterilizasyonun yapıldığını gösterir.



Resim 3.5: Steril paket üzerinde rengi değişen indikatör bandın görünüm

- **Sticker Tüpleri:** Sticker tüpler ortadan boğumlu özel tüpler olup tüpün üst boğumuna eriyebilen maddelerden biri konur. Örneğin; kükürt tablet tüp içerisine konur, 120°C’de 5–8 dakikada erir ve tüpün alt kısmına geçer. Bu da sıcaklığın istenilen seviyeye çıktığını ve sterilizasyonun tam yapıldığını gösterir. Ayrıca bu amaçla kullanılan benzoik asit 120°C’de, femasetin 135°C’de erir.
- **Biyolojik İndikatör:** Yüksek ısıya dayanıklı sporlu bakteriler, biyolojik indikatör olarak kullanılır. Örneğin, Bacillus subtilis, Bacillus stearothermophilus vb. gibi. Bakteri sporları özel tüplerde otoklavın ortasına ısı ve buharın zor ulaşabileceği yerlere konur. 121°C’de 12 dakikada sporlu bakterilerin ölmesi sterilizasyon tam yapıldığını gösterir. Sterilizasyondan sonra bakterilerden kültür yapılır, thioglycolateli ya da kıymalı buyyona ekim yapılır. 7 gün sonunda bakterinin ürememesi sterilizasyonun tam yapıldığını gösterir.



Resim 3.6: Tüpler içerisinde biyolojik indikatörler

- **Browne Sterilite Kontrol Tüpleri:** İçinde renk değiştiren sıvılar bulunan tüpler olup otoklavın ortasına konur. 115°C’de 25 dakika, 121°C’de 15 dakikada otoklavda renk değiştirir. Bu süreler sonunda kırmızıdan yeşile dönmesi sterilizasyonun tam yapıldığını gösterir.

3.3. Steril Malzemelerin Kullanılması


Herhangi bir sterilizasyon yöntemi ile steril edilen malzeme veya ortam kullanılırken şu noktalara dikkat edilmelidir:

- Steril malzeme ve ortamın kesin sınırları bilinmelidir.
- Steril malzemenin paketleri vücuttan uzağa doğru açılmalıdır.
- Steril malzeme, steril pens veya steril eldivenle tutulmalıdır.
- Steril ve steril olmayan malzemeler aynı yerde saklanmamalıdır.
- Steril malzemeler, bel seviyesinden yukarıda ve görüş alanı içerisinde tutulmalıdır.
- Steril malzemeler, hava sirkülasyonu olan ortamda tutulmamalıdır.
- Yüz, daima steril ortama ve malzemeye dönük olmalıdır.
- Steril malzeme ve ortam üzerinden karşı tarafa uzanılmamalıdır.
- Steril malzemenin ne zaman kontamine olduğu bilinmelidir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda, basınçlı buharla sterilizasyon yapabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Kişisel koruyucu önlemleri alınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Önlük ve galoş giyiniz,➤ Yapılan işe uygun eldiven giyiniz,➤ Yapılan işe uygun maske ve gözlük takınız,➤ Çalışma bankolarının temizliğini kontrol ediniz,➤ El antisepsisini uygulayınız,➤ Yaralara karşı antiseptik madde kullanınız.
➤ Otoklava, distile su koyunuz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Sterilizasyonun etki mekanizmasının azalmaması için otoklava kesinlikle çeşme suyu koymayınız,➤ Her kullanımda su seviyesini kontrol ediniz, su az ise ilave ediniz.
➤ Steril edilecek malzemeleri aralıklı, aralarından su buharı geçecek şekilde yerleştiriniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Malzemeleri mümkün oldukça küçük paketler halinde hazırlayınız,➤ Küçük paketler üzerine indikatör bandı yapıştırmayı unutmayınız,➤ Otoklava malzemeleri, hava sirkülasyonu olacak şekilde yerleştiriniz.
➤ Bezlere sarılmış ve paket yapılmış malzemeler, otoklava yerleştirilirken aralarına sterilizasyon indikatörü yerleştiriniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ İndikatörlerden uygun olanı kullanınız,➤ İndikatörü sterilizatörün alt kısmı, buharın az ulaşabileceği yerlere ve malzemelerin arasına yerleştiriniz.
➤ Otoklavın kapağını sıkıca kapatınız.	➤ Kapağı kapadıktan sonra vidaları sıkıştırınız.
➤ Otoklavın hava musluğunu açınız.	
➤ Termostatı 121°C'ye ayarlayınız.	➤ Otoklav otomatikse kendisi ayarı yapar, bu durumda müdahale etmeyiniz.
➤ Otoklavı çalıştırınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Kapağın iyice kapandığından emin olduktan sonra otoklavı kapatınız,➤ Hava musluğunu ve termostatı kontrol ediniz.

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Otoklavın hava musluğunu, su buharı çıkınca kapatınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hava musluğundan net olarak buhar çıkışına, hava karışımı olmamasına dikkat ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Termostat ve manometre derecelerini takip ediniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Manometrenin 1.1 atmosfer basınca gelmesine ve üzerine çıkmamasına dikkat ediniz. ➤ Basınç, bu seviyeye ulaşınca sıcaklık otomatik olarak 120–121°C'ye çıkacaktır, sıcaklığı gözlemleyiniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Steril edilecek malzemeler 121°C / 1kg/cm² manometre basıncında 15–20 dakika bekletiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroorganizmaların tam olarak öldürülmesi için en az 15 dakika tutunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Manometre basıncı “0”ı (sıfırı) gösterdiğinde, otoklavın hava musluğunu ve kapağını açınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Basınç “0” olmadan asla kapağını açmayınız. ➤ Basınç “0”da iken hava musluğunu açarak buharın çıkmasını sağlayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Otoklavın soğumasını bekleyiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Termometrenin 40°C'nin altında olmasını gözlemleyiniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Otoklav içindeki steril edilmiş malzemeleri boşaltınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Steril edilen malzemeleri soğuk ortamda saklayınız,  <ul style="list-style-type: none"> ➤ Paketleri, ıslak zemine koymayınız, ➤ Paketleri, kullanma anına kadar açmayınız, ➤ Otoklavın fişini çekiniz, ➤ Otoklavın bakımını yapınız ya da yaptırınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Otoklavda hangi ısı derecesinde ve sürede sterilizasyon yapılır?
A) 100 °C’de 30 dakika
B) 121 °C’de 15 dakika
C) 170 °C’de 1 saat
D) 145 °C’de 4 saniye
E) 60 °C’de 1saat
2. Aşağıdakilerden hangisi, basınçlı buharla sterilizasyonunun etki mekanizmalarından sayılmaz?
A) Mikroorganizmaların tüm formlarını/şekillerini öldürür.
B) Uygulaması kolay ve ucuzdur.
C) Toksik ve kanserojen etkilidir.
D) Kullanım alanı geniş ve etkilidir.
E) Güvenilirdir.
3. Aşağıdakilerden hangisi, etilen oksidin özelliklerinden biri değildir?
A) Yanıcı ve patlayıcıdır.
B) 10.8°C’nin altında sıvı haldedir.
C) Polietilen, plastik, kauçuk aletler sterilize edilir.
D) Etilen oksit mikrobiyostatik etkiye sahiptir.
E) Virüsler, mantarlar ve yüksek ısıya dayanıklı sporlu bakterileri dahi öldürür.
4. Aşağıdakilerden hangisi, steril edilen malzeme veya ortam kullanılırken dikkat edilen noktalardan biri değildir?
A) Steril malzeme ve ortamın kesin sınırları bilinmelidir.
B) Steril malzemenin paketleri vücuttan uzağa doğru açılmalıdır.
C) Steril malzeme, steril pens veya steril eldivenle tutulmalıdır.
D) Steril ve steril olmayan malzemeler ayrı yerde saklanmamalıdır.
E) Steril malzemeler, hava sirkülasyonu olan ortamda tutulmamalıdır.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-4

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle kimyasal maddelerle sterilizasyonu tekniğine uygun yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Mikrobiyoloji laboratuvara giderek kimyasal maddelerle dezenfeksiyon hakkında bilgi edininiz.
- Mikrobiyoloji laboratuvarına giderek mikrobiyolojik analizlerde kullanılan araç-gereçleri inceleyiniz.
- Geri dönüşümlü ve disposable araç-gereçlerin, kullanıldıktan sonra hangi işlemlere tabi tutulduğunu araştırınız.
- Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan araç-gereçlere uygulanan mekanik temizlik işlemlerini araştırınız.
- Mekanik temizlik işlemleri hakkında bilgi edinip arkadaşlarınızla paylaşınız.

4. KİMYASAL MADDELERLE STERİLİZASYON

Kimyasal maddelerle sterilizasyon işleminde dezenfektan ve antiseptik adı verilen kimyasal maddelerden faydalanılır. Bu maddeler, sterilizasyondan çok dezenfeksiyon ve antisepsi amacıyla kullanılır.

4.1.Dezenfeksiyon ve Antisepsi

- **Dezenfeksiyon;** kimyasal maddeler kullanarak bir cismin ya da maddenin patojen mikroorganizmalardan arındırılması işlemidir.
- **Antisepsi;** canlı doku yüzeyindeki (deri, mukoza, yara gibi) patojen mikroorganizmaların, kimyasal maddeler kullanılarak öldürülmesi işlemidir.

4.1.1.Dezenfeksiyon ve Antisepsiye Etkileyen Etmenler

- **Etki Süresi:** Dezenfektan maddenin mikroorganizma üzerine etkili olabilmesi için belirli bir süre geçmesi gerekir. Etki süresi, uygulanan madde ve uygulandığı ortamın şartlarına göre değişir.
- **Isı:** Isı arttıkça dezenfektan maddenin etkisi de o oranda artar.
- **pH:** Ortamın pH'sı nötr durumdan ne kadar uzak olursa (asit-alkali) etkisi o kadar artar.

- **Organik Maddeler:** Ortamda bulunan organik maddeler dezenfeksiyonu olumsuz yönde etkiler.
- **Mikroorganizmaya Bağlı Etkiler:** Mikroorganizmaların cins, tür ve yaşam evrelerine göre dezenfektan maddenin etkisi değişiktir. Örnek: Bakteri sporları, dezenfektanlara daha dirençlidir.

4.1.2. Dezenfektan ve Antiseptik Maddelerin Etki Mekanizmaları

- **Hücre Zarına Etkili Dezenfektan ve Antiseptikler:** Hücre zarının yapısını değiştirerek hücrenin aktif taşımasını ve enerji mekanizmasını bozar.
- **Hücre Proteinlerini Denatüre Eden Dezenfektan ve Antiseptikler:** Hücre proteinlerinin yapısını bozar.
- **Hücre Nükleik Asitlerine Etki Eden Dezenfektan ve Antiseptikler:** Hücre içindeki nükleik asitleri etkiler, genetik yapısını bozar ve mutasyona neden olur.
- **Hücrenin Enzimlerine Etki Eden Antiseptik ve Dezenfektanlar:** Enzimlerin yapısını bozarak hücresel işlevlerin değişmesine ve aksamasına yol açar.

4.1.3. İyi Bir Dezenfektanda Aranacak Özellikler

- Bakterisit etkisi yüksek olmalı,
- Kısa sürede etkisini göstermeli,
- İn vivo/hücre içi ve invitro/ hücre dışı etki mekanizmaları bilinmeli,
- İnsan ve hayvanlar için az toksik etkili olmalı,
- Allerjik ve kanserojen etki göstermemeli,
- Eşyayı tahrip etmemeli, leke bırakmamalı,
- Suda kolay erimeli,
- Kolay bozulmamalı,
- Kötü kokulu olmamalı,
- Ucuz olmalı.

4.1.4. Başlıca Dezenfektan ve Antiseptikler

- **Fenol ve Fenol Bileşikleri:** % 5'lik fenol ve fenol bileşiklerinden % 5'lik krezol yer ve duvarların dezenfeksiyonunda, % 5'lik lizol deri antiseptiği olarak kullanılır. Heztraklorofen el ve deri antiseptisi için el kremlerine veya sabunlara katılır.
- **Sabunlar:** Sabunla yıkanan deri üzerindeki bakteri sayısında önemli oranda düşme olur. Sabunlara antibakteriyel etki kazandırmak için yapılarına krezol, heztraklorofen gibi fenol türevleri katılır. Böylece sabunların bakteriyostatik etkisi artmış olur.
- **Deterjanlar:** Zefiran, zefirol ve femirol en çok kullanılan dezenfektan ve antiseptik maddelerdir.
- **Alkoller:** Bu grup içinde alkol, eter ve kloroform yer alır. En çok kullanılan alkoldür. Alkolün % 70'lik sulu çözeltisi iyi bir deri antiseptiğidir.

- **Gaz dezenfektanlar**
- **Formaldehit:** Gaz halindedir. Sıvı haline formol/formalin adı verilir. Bu eriyik sporlara da etkilidir. Odaların sterilizasyonunda kullanılır. Yüksek ısı ile sterilizasyonda bozulan bir çok eşya da bu yolla steril edilebilir.
 - **Etilen Oksit:** Gaz halindeki bu madde, bakterilerin hem vegetatif hem de sporlu şekillerini öldürerek tam bir sterilizasyon sağlar; ancak çok toksik etkilidir. Bu nedenle deriye temas etmemeli ve solunmamalıdır. % 90 CO₂ ile karışımı karboksit adı altında otoklavda kullanılır. Yüksek sıcaklıkta bozulabilecek plastik, lastik eşyalar, battaniyeler, ilaçlar steril edilebilir.
- **Boyalarda:** Malaşit yeşili, brillant green, kristal viole, metilen mavisi gibi boyalar kullanılır. Örneğin, metilen mavisi iyi bir ağız mukozası antiseptiğidir.
- **Asitler ve Alkaliler:** HCl (hidroklorik asit), CH₃COOH (asetik asit), H₂BO₄ (borik asit), H₂SO₄ (sülfirik asit), NaOH (sodyum hidroksit), KOH (potasyum hidroksit) gibi maddeler kullanılır. Bunlar eşyaya zarar verdikleri için çok fazla kullanılmamaktadır.
- **Oksidan maddeler**
- **Oksijenli Su (H₂O₂ Hidrojen Peroksit):** %3'lük çözeltisi yara ve deri antiseptiği olarak kullanılır.
 - **Potasyum Permanganat (KMnO₄):** %0.1lik çözeltisi yara antiseptiği olarak kullanılır.
 - **Ozon (O₃):** Antiseptik olarak ve suların dezenfeksiyonunda kullanılır.
- **Halojenler**
- **Klor (Cl₂) ve Klorlu Bileşikler:** Suların, çiğ meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda kullanılır. Virusları bile öldürücü etkisi vardır.
 - **İyot:** Yara ve deri antiseptiği olarak yaygın şekilde kullanılır.
- **Kireçli Bileşikler (Sönmemiş Kireç, Sönmüş Kireç, Kireç Kaymağı):** Sönmemiş kirece yarısı kadar su katılırsa sönmüş kireç elde edilir. Lağım çukuru, kadavra, su, duvar, septik çukur, hasta atıkları ve kümeslerin dezenfeksiyonunda kullanılır.
- **Ağır Metaller ve Tuzları:** Yüksek konsantrasyonlarda mikroorganizmalara etkilidir; ancak insan dokularına zarar verir.
- **Cıvalı Bileşikler (HgCl₂ Cıvaktorür /Süblime):** Sporlara etkisizdir. %0.1 lik süblime çözeltisi yer, duvar, mobilya, cerahat ve ellerin dezenfeksiyon ve antiseptisinde kullanılır.
 - **Gümüşlü Bileşikler:** Göz, burun ve boğaz antiseptiği olarak kullanılır.

4.1.5. Dezenfeksiyon ve Antisepsinin Uygulama Alanları

➤ El Antisepsisi

Direkt temasla bulaşmada en önemli yol ellerdir. Günlük hayatta 15 saniye sabunlamak ellerin antisepsisi için yeterlidir. Sabunlama sırasında ellerin oğuşturulması gerekir. Bu işlemle kir, yağ, hücre döküntüleri ile bakterilerin de uzaklaşması sağlanır. Hastalarla doğrudan ilişki içinde bulunan sağlık personelinin el yıkamasında, % 3 hezklorafenli veya % 5 krezollu sabunlar kullanması daha etkili bir yöntemdir.

Hastanede çalışan bir sağlık personeli şu durumlarda mutlaka ellerini yıkamalıdır:

- Göreve başlamadan önce,
- Hastayla ve eşyasıyla temas öncesi ve sonrası,
- Yemek öncesi ve sonrası,
- Tuvalet öncesi ve sonrası,
- Görev bitiminde.

➤ Deri ve Yara Antisepsisi

- Deri antisepsisi amacıyla kullanılan antiseptiklerin başında tentürdiyot gelir. İyot, deride irritasyona neden olabileceğinden bu etkiyi azaltmak için iyodun fazlası alkolle silinerek alınır.
- Deri altı, deri içi ve damara yapılacak enjeksiyonlarda alkol, alkol iyot karışımı veya % 0,1 mertiolat sürülerek deriyi temizlemek yeterlidir.
- Yaraların antisepsisinde, öncelikle toz toprak vb. ile kirlenmiş yara bölgesindeki yabancı cisimler ayıklanır. Sabunlu su, %1 benzalkonium klorür veya % 3 hidrojen peroksit ile yıkanır; ayrıca tentürdiyot, % 0,1 mertiolat veya alkolle silinir.
- Kuduz şüpheli hayvan ısırığı yaralarında yapılacak ilk işlem, yara bölgesini sabunlu su veya deterjanlı su (benzalkonium klorür) ile bolca yıkamaktır. Kesinlikle dikiş atılmamalıdır.

➤ Laboratuvar Dezenfeksiyonu

- Bu amaçla % 10 formalin kullanılır. Formol gaz halinde veya formol buharı halinde her yere nüfuz edebilir. Sporlar dâhil tüm mikroorganizmaları öldürür. Kullanım güçlüğü nedeniyle ancak özel durumlarda uygulanan bir yöntemdir. Odadaki tüm mikroorganizmaların yok edilmesi isteniyorsa oda 24 saat kapalı tutulduktan sonra formaldehitin etkisini nötralize etmek için bir delikten amonyak gazı verilir. Daha sonra oda kapısı açılır ve havalandırılır.
- Yerler potas sabunu ile fırçalandıktan sonra % 3-5 fenol veya % 5 krezol eriyikleri ile silinir. Viroloji laboratuvarlarında ise bunların virüsler üzerine etkisi az olduğundan, ayrıca % 1-3 sodyum veya kalsiyum hipoklorit ile de silinmesi gerekir
- Fayans ve yağlı boya duvarlar da aynı şekilde temizlenir.
- Laboratuvar ve servis bankoları ile masa, sandalye, koltuk, sedye vb. oda eşyaları da aynı çözeltilerle silinip dezenfekte edilebilir.

4.2. Mikrobiyolojik Kirli Malzemelerin Toplanması

Mikrobiyoloji laboratuvarında yapılan analiz çalışmalarında camdan yapılmış, kirlendiğinde temizlenip tekrar tekrar kullanılabilir nitelikteki malzemeler kullanıldığı gibi; teknolojinin gelişmesiyle birlikte üretilen, disposable adı verilen, bir kez kullanılıp atılan, tek kullanımlık malzemeler de kullanılmaktadır. Bundan dolayı analiz çalışmaları sonucu kirlenen malzemeler türlerine göre farklı ortamlarda toplanır.

4.2.1. Kirli Malzemelerin Toplandığı Ortamlar

- **Cam silindirler:** İçinde dezenfektan madde bulunur, kirli cam pipetler konur.



Resim 4.1: Cam silindir içinde kirli pipetler

- **Metal kovalar:** Kirli cam tüpler, cam petri kutuları, kapaklı cam tüpler, şişeler, balonlar, erlenler, beherler ve cam silindirlerde toplanan kirli cam pipetler gibi geri dönüşümlü cam malzemeler konur.



Resim 4.2: Metal Kovalar içinde şişeler, petri kutuları, vidalı kapaklı tüpler

- **İçine otoklav poşeti yerleştirilmiş kovalar:** Disposable kirli petri kutuları, tüpler, pipetler, otomatik pipet uçları, özeler, hastadan alınan mikrobiyolojik örnekleri içeren plastik kaplar, eküvyon tüpleri, eldivenler vb. kontamine atıklar konur.



Resim 4.3: Kovaya poşetin yerleştirilmesi

- **Otoklavda sterilizasyona dayanıklı kapaklı plastik kovalar:** Kirli lam-lamel ve kesici delici gereçler konur.



Resim 4.4: Otoklavda sterilizasyona dayanıklı kapaklı plastik kovalar

- **Kontamine olmayan atık kovası:** Temiz kağıt vb. normal atıklar konur.
- Uygun kap ve poşetlerde toplanan tüm kirli malzemeler (plastikten yapılmış tek kullanımlık atılacak malzemeler ve geri dönüşümlü cam malzemeler) otoklavda basınçlı buhar yöntemiyle steril edilerek tüm mikroorganizmalardan arındırıldıktan sonra mekanik temizlik işlemlerine başlanır.

4.3. Steril Edilmiş Kirli Cam Malzemelerin Mekanik Temizliği

Sterilizasyon sona erdiğinde, otoklavdan çıkarılan cam malzemeler mekanik temizlik için geniş lavobalara boşaltılırken tek kullanımlık atılacak malzeme torbaları büyük tıbbi atık toplama torbalarına konarak tıbbi atık merkezine gönderilir.

4.3.1. Kirli Cam Malzemelerin Mekanik Temizliği

- Mikroorganizmalardan arındırılmış kirli tp, tüp kapakları, petri kutusu, lam-lamel, erlen, beher, balon, balon joje, mezr, şişe vb. cam gereçlerin temizliği şu şekilde yapılır;
- Otoklavdan çıkarılan cam malzemelerin içerikleri sıcakken dökülür ve kalan besiyeri artıklarının uzaklaştırılması için sıcak su ile çalkalanır.
- Tel sepetlerle beraber içinde deterjanlı su bulunan kazanlara daldırılarak 20-30 dakika kaynatılır.
- Suları dökülerek ileri uygun firalarla firalanıp sıcak musluk suyu ile bolca çalkalanır.
- Tekrar başka tel sepetlere doldurulup, temiz eşme suyu içeren bir lavoba 15 dakika beklettikten sonra yine eşme suyu bulunan ikinci evyede aynı şekilde daldırılarak bekletilir.
- Suları boşaltılır, bu kez içinde iyonsuzlaştırılmış su bulunan bir başka evyede aynı şekilde bekletilir.
- Bankoların zerine yayılan emici kağıt veya gazlı bez üzerine ters bırakılarak suları süzdürülür.



Resim 4.5: Yıkandış tüplerin szdrlmesi

- Oda derecesinde veya en iyisi sıcak havalı dolapta ya da etüvde kurutulur.
- Kurumuş tüm cam gereçler usulüne uygun ambalajlanarak sterilizasyona hazırlanır.
- Günümüzde cam gereçleri otomatik olarak yıkayan, durulayan ve dezenfekte eden bulaşık makineleri vardır. Kirli tüm gereçler önce otoklavda steril edilir, sonra her çeşit gereç için özel yapılmış tel sepetlere dizilir ve makinede yıkanır.
- Kullanılmış kirli pipetler, içinde % 2,5 hipoklorit veya % 3'lk lizol eriyiği vb. gibi bir dezenfektanın bulunduğu bir polietilen silindirin içinde toplanır.
- Kirli pipetler, öncelikle otoklavda steril edilerek bulunabilecek mikroorganizmalardan arındırılır.
- Içinde deterjan bulunan suda 20-30 dakika kaynatılır.

- En iyisi, uçlarından basınçlı hava uygulayarak ya a teker teker ucu kıvrık tel ile çekerek tıkaçları çıkartılır.
- Tam temizlenmemiş ve içlerinde organik atıklar görülen pipetler, içinde dikromat/bikromat sülfürik asitli eriyik bulunan bir silindirde bir gece bekletilir.



Resim 4.6: Kirli pipetler

- Bir gece beklemeden sonra iki kez musluk suyu ile durulanır.
- Durulama işlemi için özel olarak yapılmış pipet yıkama makinelerinin kullanılması daha uygundur; eğer bu sağlanamıyorsa pipetler bir kaçı bir arada akan musluk altına tutularak suyun bir uçtan girip, diğer uçtan çıkması sağlanarak durulanır.
- Son olarak içinde iyonsuzlaştırılmış su bulunan evye içine yatırılarak 20-30 dakika bekletilir.
- İçinde emici kâğıt veya gazlı bez bulunan silindire pipetler dik konularak suları süzdürülür ya da oda derecesinde veya en iyisi sıcak havalı dolapta/etüvde kurutulur.











Resim 4.7: Yıkanıp süzdürülmeye bırakılan pipetler

- Kurumuş tüm cam gereçler ambalajlama işlemi için hazır hale gelir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda, kimyasal maddelerle sterilizasyon yapabileceksiniz

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Kişisel koruyucu önlemleri alınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Önlük ve galoş giyiniz,➤ Yapılan işe uygun eldiven giyiniz,➤ Yapılan işe uygun maske ve gözlük takınız,➤ Çalışma bankolarının temizliğini kontrol ediniz,➤ El antisepsisini uygulayınız,➤ Yaralara karşı antiseptik madde kullanınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Steril edilmiş kirli cam malzemelerin temizliği için malzemeleri otoklavdan alıp lavaboya boşaltınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Cam malzemeleri metal kovasıyla birlikte lavaboya götürünüz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Petri kutusu ve tüp içindeki besiyerlerini, şişe içeriklerini hemen sıcakken dökünüz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Vidalı kapaklı tüplerin kapaklarını açınız,  <ul style="list-style-type: none">➤ Besiyeri içindeki agar atıklarının tekrar donmaması için petri kutusu içeriklerini sıcakken dökünüz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Kalan besiyeri artıklarını gidermek için sıcak musluk suyu ile yıkayınız. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Cam malzemeleri ve tüp kapaklarını ayrı ayrı kaplara koyunuz. 

	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Petri kutuları, şişeleri, balonları, erlenleri, beherleri, tüpleri ve tüp kapaklarını 20-30 dakika kaynatınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Malzemeleri, tel sepetlere yerleştirip içinde deterjanlı su bulunan kazanlara daldırınız, ➤ Su seviyesini, malzemeleri kapatacak şekilde ayarlayınız, ➤ Kaynatma olanağı yoksa malzemeleri, içinde deterjanlı su bulunan kaptaki bir gece bekletiniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cam malzemelerin sularını dökerek sıcak musluk suyu ile bolca çalkalayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tüplerin içini, uygun fırçalarla fırçalayınız. 
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cam malzemeleri ve kapakları, musluk suyu içeren bir kaptaki 15 dakika bekletiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Su seviyesinin, malzemeleri örtecek şekilde olmasına dikkat ediniz. 
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cam malzemelerin sularını boşaltınız, içinde distile su bulunan bir başka kaptaki aynı şekilde bekletiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bu işlem için mutlaka distile su kullanınız.

- Cam malzemelerin sularını süzdürünüz.



- Malzemeleri bankoların üzerine yayılan emici kâğıt veya gazlı bez üzerine ters bırakarak tel ya da tahtadan yapılmış süzgeçlere ya da lavabo süzgecine dizerek sularını süzdürünüz.



- Cam pipetlerin temizliği için deterjanlı suda 20-30 dakika kaynatınız.

- Su seviyesini malzemeleri kapatacak şekilde ayarlayınız.


- Pipetlerin tıkalı kısımları varsa açınız.

- Uçlarından basınçlı hava uygulayarak ya da teker teker ucu kıvrık tel ile çekerek tıkaçları çıkartınız.

- Tam temizlenmemiş pipetleri, dezenfektan bulunan cam silindirde 1 gece bekletiniz.



- Dezenfektan olarak bikromat sülfürik asitli eriyiği kullanınız.

<p>➤ Pipetleri, önce iki kez musluk suyu ile durulayınız.</p>	<p>➤ Durulama için pipet yıkama makinelerinin kullanılması daha uygundur. Yoksa pipetleri bir kaç bir arada, akan musluk altına tutup suyun bir uçtan girip diğer uçtan çıkmasını sağlayarak durulayınız.</p>
<p>➤ Pipetleri distile su bulunan eveye ya da küvet içine yatırarak 20-30 dakika bekletiniz.</p>	<p>➤ Bu işlem için mutlaka distile su kullanınız.</p>
<p>➤ Yıkama işlemi biten cam pipetlerin sularını süzdürünüz.</p>	<p>➤ İçinde emici kağıt veya gazlı bez bulunan cam silindire, pipetleri dik koyarak sularını süzdürünüz ya da oda derecesinde veya en iyisi etüvde kurutunuz.</p> 
<p>➤ Boyalı veya boyasız preparatlar için kullanılmış kirli lam ve lamellerin temizliğini de diğer cam malzemeler gibi yapınız.</p>	<p>➤ Mümkün oldukça her kullanışta, yeni ve kullanılmamış lam-lamelleri tercih ediniz.</p>

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan kirli cam gereçlerin temizliğinde yapılacak ilk işlem aşağıdakilerden hangisidir?
A) İçlerindeki sular dökülerek uygun fırça ile fırçalanır.
B) Tel sepetlere yerleştirilip deterjanlı suda kaynatılır.
C) Tel sepetlere yerleştirilip çeşme suyu bulunan evyede bekletilir.
D) Metal kovalara yerleştirilip otoklavda steril edilir.
E) Her çeşit gereç için özel yapılmış tel sepetlere dizilip makinede yıkanır.
2. Aşağıdakilerden hangisi, canlı doku yüzeyindeki patojen mikroorganizmaların kimyasal maddeler kullanılarak öldürülmesi işlemidir?
A) Antiseptik
B) Antisepsi
C) Sepsis
D) Dezenfeksiyon
E) Bakterisit
3. Aşağıdakilerden hangisi, dezenfeksiyon ve antisepsiyi etkileyen etmenlerden biri değildir?
A) Ortamın etki süresi
B) Ortamın pH'sı
C) Ortamın ısısı
D) Ortamda bulunan organik maddeler
E) Mikroorganizmaya bağlı etkiler
4. Aşağıdakilerden hangisinin, %70'lik sulu çözeltisi, iyi bir deri antiseptiğidir?
A) Eter
B) Kloroform
C) Alkol
D) Zefiran
E) Zefirol
5. Aşağıdaki boyalardan hangisi, iyi bir mukoza antiseptiğidir?
A) Kristal viole
B) Malaşit yeşili
C) Brillant green
D) Giemza
E) Metilen mavisi

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-5

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığımız bilgilerle kuru sıcak hava ile sterilizasyonu tekniğine uygun yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Evlerinizde bulunan fırınları inceleyiniz
- Laboratuardaki etüv ve pastör fırınlarını inceleyip birbirleriyle karşılaştırınız.

5. KURU SICAK HAVA İLE STERİLİZASYON YAPMA

5.1. Kuru Sıcak Hava ile Sterilizasyon

Prensip, kuru sıcak hava akımı altında sterilizasyon yapmaktır. Burada çeşitli büyüklükte ve derecelerde olan Pasteur Fırını kullanılır. Büyüklüğüne göre içinde bir ya da iki rafı bulunur. Sterilize edilecek paketlenen malzemeler raflara, hava sirkülasyonunu/akımını sağlayacak şekilde yerleştirilir, kapağı kapatılır. Düğmeye basılır, çalışmaya başlatılır. Butonun da istenilen ısı derecesine gelmesi sağlanır ve sterilizasyon süresi başlatılır. Süre bitiminde düğme kapatılır. Isının düşmesi beklenir. Cihazın ısısı düştükten sonra kapak açılır.



Resim 4.1: Pasteur fırını

Çeşitli sıcaklıkta/derecelerde ve değişik sürelerde tutulmak suretiyle sterilizasyon yapılır.

Genel olarak;

- 170 °C’de 1 saat
- 160 °C’de 2 saat
- 150 °C’de 3 saat
- 120 °C’de 8 saat sterilizasyon yapılır.

Bu yöntem ile beher, küçük şişe, lam, pipet, tüp gibi cam malzemeler, madeni malzemeler ve nemin geçirgenliğine izin vermeyen vazelin, gliserin gibi yağlar ile sülfonamid, pudralar gibi toz halinde maddeler steril edilir. *Steril edilecek cam malzemeler kesinlikle kuru olmalıdır.*

Besiyerleri ve sıvı maddeler kuru sıcak havada steril edilmez, otoklavda steril edilir; çünkü: besiyerlerinin besin değeri azalır, içindeki sıvı buharlaşır ve besiyerinin kurumasına sebep olur.

Kuru sıcak havada nem olmadığı için sterilizasyon süresi uzar. Nemli ısıya göre mikroorganizmalar üzerine etkisi de daha azdır.

5.2. Sterilliğin Denetlenmesi

- **Brown Sterilite Tüpleri:** Kimyasal indikatör olarak Pastör fırınının denetlenmesinde 160 °C’de bir saatte renk değiştiren sıvılardır. Pastör fırınının ortasına konur. Süre sonunda rengin kırmızıdan yeşile dönmesi sterilizasyonun gerçekleştiğini gösterir.
- **Biyolojik İndikatör:** Yüksek ısıya dayanıklı sporlu bakteriler kullanılır. Örneğin Bacillus subtilis, Bacillus stearothermophilus gibi. Bakteri sporları özel tüplerde pasteur fırının ortasına, ısının zor ulaşabileceği yerlere konur. Sporlu bakteriler, pasteur fırının tüm ısı derecelerinde ölür. 121°C’de 12 dakikada tüm sporların ölmesi dolayısıyla sterilizasyon tam gerçekleşir.



Resim 4.2: Tüpler içerisinde biyolojik indikatörler

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda, kuru sıcak hava ile sterilizasyon yapabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Sterilizasyon için hazırlanmış ambalaj içindeki sterillenecek malzemeleri sıkışık olmayacak şekilde pastör fırınına yerleştiriniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Paketlerin üzerine indikatör bandını yapıştırınız.➤ Hazırlanmış paketleri raflara, birbirlerine temas etmeyecek şekilde yerleştiriniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Pastör fırının kapağını kapatınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Pastör fırının kapağını kapatarak düğmeyle çalıştırınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Sıcaklığın derecesini termometreden izleyerek istenilen sterilizasyon ısısına ulaştığında sterilizasyon süresini başlatınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Isı ayar düğmesini/butonunu istenilen ısı derecesine çevirerek ayarlayınız.➤ İstenilen ısı derecesine geldiğinde süreyi başlatınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Sterilizasyon süresi sonunda pastör fırını kapatınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Sterilizasyon esnasında fırının kapağını açmayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Pastör fırınının soğumasını bekleyiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Pastör fırını soğumadan, kapağını açmayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Sterilizasyon indikatörlerini kontrol ediniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Sterilizasyon indikatörlerinin renklerinin değişip değişmediğini kontrol ediniz.➤ Renk değişikliği olmaması halinde sterilizasyonu tekrarlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Steril olmuş araç gereçleri pastör fırınından alınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Steril olan malzemeleri alarak uygun şekilde saklayınız.➤ Steril malzemeleri/paketleri kullanılıncaya kadar açmayınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Pastör fırınında, hangi ısı ve sürelerde tutmak suretiyle malzemelerin sterilizasyonu yapılır?
A) 170 °C’de 1 saat
B) 160 °C’de 2 saat
C) 150 °C’de 3 saat
D) 120 °C’de 8 saat
E) Hepsi
2. Aşağıdaki yöntemlerin hangisiyle, pastör fırınında sterilizasyon yapılır?
A) Basınçlı buharla
B) Süzmeyle
C) Kuru sıcak havayla
D) Işınlarla
E) Kimyasal maddelerle
3. Aşağıdaki malzemelerin hangisi pastör fırınında steril edilemez?
A) Cam malzeme
B) Besiyeri
C) Metal malzeme
D) Toz pudra
E) Vazelin

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-6

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle tındalizasyon ile sterilizasyonu tekniğine uygun yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- İnternet ortamından veya ansiklopediden tındalizasyon hakkında bilgi toplayınız.
- Evlerde çamaşırların kaynatılma sebeplerini öğreniniz.

6. TİNDALİZASYON İLE STERİLİZASYON

6.1. Tındalizasyon

- Bu sterilizasyon, **benmari** adı verilen sterilizasyon aleti içerisinde, sıcak su banyosu şeklinde yapılır.
- Benmaride yüksek ısıda bozulabilen antijen, serum, çözeltiler, jelatin, eriyik, şekerli maddeler vb. steril edilir.



Resim 5.1: Benmarinin açık ve kapalı görünümü

- Steril edilecek malzemeler, cam balona veya tüp içine konarak sterilizasyonu yapılır.
- Tüpler, sporla birlikte benmari içerisine konur.



Resim 5.2: Supordaki tüpler ve cam balonun benmari içindeki görünümü

- Tindalizasyonda çözeltiler 80–100°C’de üç gün süreyle 30 dakika, aşı, kan, serum, besiyeri gibi maddeler 56–60°C’de 60 dakika benmaride tutularak steril edilir.
- Steril edilecek malzeme, her sıcak su banyosundan/işlemden sonra bir gece oda ısısında bekletilir.
- Birinci ısıtmada bakterilerin vejetatif/üreyen şekillerinin bir kısmı ölür, sporlar canlı kalır.
- Birinci gün oda ısısında bekletilmek suretiyle bu sporlar açılıp vejetatif hale geçer.
- İkinci günü işlemde açılan sporlu bakterilerin vejetatif şekilleri ölür.
- Üçüncü günü işlemde ise ortamda kalmış olan spordan oluşabilen bakterilerin vejetatif şekilleri de ölür.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda, tinalizasyon ile sterilizasyon yapabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Tinalizasyon için sıvıları, steril cam balonlara/tüplere koyunuz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Tinalizasyon için sıvıları koyduğunuz tüpleri, spora yerleştiriniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Balonları tüpleri benmarideki suyun içine koyunuz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Balonları ya da tüp sporunu, benmari içerisine yerleştiriniz.➤ Benmarideki su seviyesinin, balon ve tüp seviyesini aşmamasına dikkat ediniz.➤ Cihazın fişini takınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Sterillenecek sıvının ısıya dayanma derecesine göre benmari ısını ayarlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Isı buton/düğmesini istenilen ısıya göre ayarlayınız.➤ Isınma esnasında benmarinin kapağını kapatmayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Sterillenecek sıvıyı 60°C'de 60 dakika/80–100°C'de 30 dakika bekleterek benmariden çıkartınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ İstenilen ısıya geldiğinde, süreyi başlatınız.➤ Süre tamamlandığında, hemen balon/tüp sporunu benmariden çıkartınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Benmariden çıkarılan sıvıyı bir gece oda ısısında bekletiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Sıvıların bulunduğu balon/tüpleri laboratuvar çalışma alanına uzak bir yere koyunuz./Balon ve tüpleri, oda ısısı yerine 37 °C'de çalışan etüv içerisinde de bekletebilirsiniz/bekletiniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Oda ısısında bekleyen sterillenecek sıvıyı (60°C'de 60 dakika/80–100°C'de 30 dakika) bekleterek benmariden çıkartınız.	
<ul style="list-style-type: none">➤ Benmariden çıkarılan sıvıyı yine bir gece oda ısısında bekletiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ İkinci gün, birinci gün uyguladığınız işlemleri tekrar benmaride uygulayınız.➤ Balon ya da tüpleri yine laboratuvarın aynı bölümünde bekletiniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Oda ısısında bekleyen sterillenecek sıvıyı 60°C'de 60 dakika/80–100°C'de 30 dakika bekleterek benmariden çıkartınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Üçüncü gün de benmaride aynı işlemleri tekrarlayarak uygulayınız.➤ Süre dolduğunda, sıvıyı benmariden çıkartınız.➤ Benmarinin AÇ/KAPA düğmesini '0' getiriniz, fişini çekiniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

1. Tindalizasyonda, yüksek ısıda bozulabilen, gibi maddeler sterilize edilir.
2. Tindalizasyon, benmaride maddeleri, üst üste belli ısıda tutmak suretiyle yapılır.
3. Kaynatma yoluyla steril edilen malzemeler, kabın içinden pens yardımıyla alınır.
4. Kaynatma esnasında dikkat edilmesi gereken nokta, suya tamamen batırılmış olmasıdır.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-7

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığımız bilgilerle yakarak ve alevden geçirme ile sterilizasyonu tekniğine uygun yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

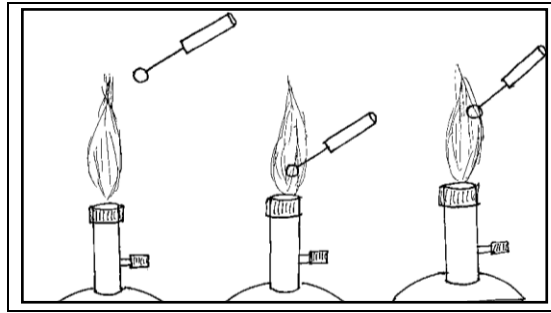
- Elimize bir şey battığında iğneyi niçin yakarak kullanırız, öğreniniz.
- Enfekte gazlı bez vb malzemeler ve kadvraların yakılarak imha edilme sebebini araştırınız.

7. YAKARAK VE ALEVDEN GEÇİRELEREK STERİLİZASYON YAPMA

7.1. Yakma Yöntemi ile Sterilizasyon

Luplu öze, iğne öze gibi araç-gereçler yakma yöntemiyle steril edilir. Mikrobiyoloji laboratuvarında ekim için kullanılan öze gibi malzemelerin uçları alevde, kızıl derecede yakılarak steril edilir ve soğutulurak kullanılır. Çalışma sonunda öze aynı şekilde alevde tutularak kızıl derecede yakıldıktan sonra yerine konmalıdır.

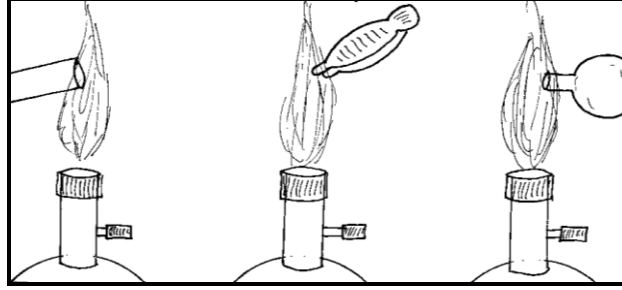
Enfekte gazlı bez, pamuk vb. gibi maddeler ve hayvan kadvraları yakılarak yok edilir.



Şekil 6.1: Özenin bekte yakılarak steril edilmesi

7.2. Alevden Geçirme (Flambaj) Yöntemi ile Sterilizasyon

Bu işlem için bunzen/bek/alev kullanılır. Pens ve penset uçlarının, beherglass, erlenmayer, tüp, balon, balon joje vb. gibi cam malzemelerin ağız kısımlarının alevden üç, dört defa geçirilmesiyle yapılır. Alevden geçirme işlemi çoğunlukla bakteriyolojik çalışmalarda uygulanır.



Şekil 6.2: Malzemelerin alevden geçirilmesi

Çalışmalar, her zaman alev altında yapılır. Böylece hem çalışana hem de çalışma ortamına mikroorganizmaların bulaşması, yayılması önlenmiş olur. Steril edilmiş, ağzı pamuk ya da orijinal kapağı ile kapatılmış cam eşyalar hem açılırken hem de kapatılırken alevden geçirilmesi gerekir. Alev, tüpün ağızındaki mikroorganizmaları yok eder; aynı zamanda dış kısımda hava akımı yaratıp o alandaki havayı steril ederek havadan kontaminasyon ihtimalini önler.

Ayrıca lam-lamel alevden yalıtılarak sterilizasyon yapılır. Malzemelerin sadece alevde geçen kısımları steril olur.

Preparatların tespit işlemi de aynı şekilde, materyal üstte olacak şekilde alevden geçirilerek yapılır.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda, yakarak ve alevden geçirerek sterilizasyon yapabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Özeyi sapından, kalem gibi tutunuz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Sapından tuttuğunuz özenin uçlarını alevin içinde, sapını ise sağa doğru hafif eğik ve üstten eliniz yanmayacak şekilde tutunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Kirli özelerin, tel kısımlarının taşıdığı serum, kan gibi organik maddeleri, alevin alt kısmına yani mavi kısma tutarak karbonlaşmasını sağlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Alevin boruya yakın olan alt kısma gazın tamamının yanmadığı mavi kısma özenin kirli kısımlarını tutarak yakınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Bulaşığı karbonlaştırılmış özelerin tel kısımlarını, yanan bek alevinin üst sarı kısmında kızıl dereceye kadar ısıtınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Alevin üst kısmı, çıkan gazın tamamının yandığı sarı alevde özeyi tekrar tutarak kızıl dereceye kadar yakınız.➤ Özenin ne kadar yanan (karbonlaşan) kısmı varsa hepsini kızıl derecede tekrar yakınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Cam malzemelerin ağız kısımlarını bek alevinden geçiriniz	<ul style="list-style-type: none">➤ Erlen, cam balon, şişe malzemeleri sol elle tutunuz; ağzındaki kapak ya da pamuğu sağ elin küçük parmağı ile el ayası arasında sıkıştırarak açınız.➤ Malzemeyi sağ elin baş-ışaret ve orta parmağıyla alttan kavrayıp döndürerek ağız kısımlarını alevden geçiriniz.➤ Cam malzemeleri seri bir şekilde döndürerek çatlamasını önleyiniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

1. Öze, iğne gibi araç-gereçler, bekte dereceye kadar yakılarak steril edilir.
2. Flambaj yönteminde alevi kullanır.
3. Alev altında çalışmak, havadan gelen mikroorganizmaların ortama önlemek bakımından önemlidir.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-8

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle filtrasyon ile sterilizasyonu tekniğine uygun olarak yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

İnternet ortamından ya da laboratuarlardan filtrasyon konusunda bilgi edininiz.

8. FİLTASYON (SÜZME) İLE STERİLİZASYON

8.1. Filtrasyon ile Sterilizasyon

Filtrasyon işleminde özel filtreler (süzgeçler) kullanılır. Prensip, sıvı bir ortamda bulunan mikroorganizmaların ya da partiküllerin çeşitli filtrelerden geçirilerek tutulması, süzüntüye geçmemesi esasına dayanır.

Besiyerine katılan; şeker-vitamin-serum -diğer kan ürünleri, aşular, ilaçlar, damar içi sıvılar, enzimler gibi ısıya dayanıksız sıvılar, filtrasyon yöntemi ile steril edilir. Filtrasyon işlemi ayrıca sıvılardaki mikroorganizma tiplerini ayırma, mikroorganizmaların toksinlerini elde etme, suların bakteriyolojik incelenmesi için de kullanılır. Filtrasyon yönteminde, mikroorganizmalar öldürülmez, sadece ortamdan uzaklaştırılır. Filtrasyon işlemi, iki şekilde yapılır.

8.1.1. Mikroorganizmaları Adsorbsiyon Mekanizması ile Tutan Süzgeçler

Adsorbsiyon: Moleküllerin, temas ettikleri yüzeydeki çekme kuvvetine bağlı olarak o yüzeyle birleşmesidir.

Burada kullanılan süzgeçlerle süzme esnasında, süzgeç elektriğine göre, bakteriler daha negatif elektrik taşımaları nedeniyle süzgeç aralıklarının duvarlarına adsorbe olur, süzüntüye geçemez.

Bu amaçla kullanılan süzgeçler şunlardır:

- **Berkefeld Süzgeçler:** Fosil diatom toprağından yapılmıştır. Buji şeklindedir. Isı ile kızıl dereceye kadar ısıtılarak steril edilir. Günümüzde fazla kullanılmamaktadır.

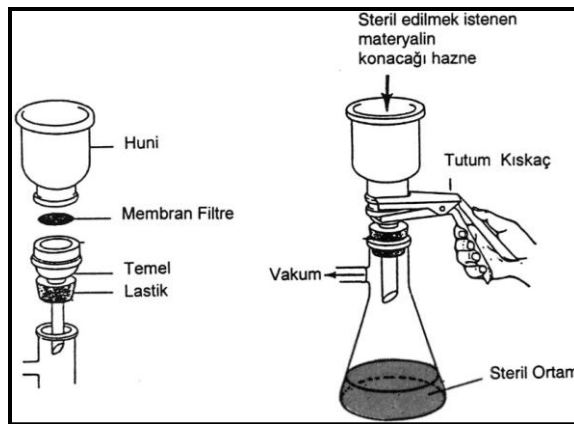
- **Chamberland ve Pastör Süzgeçler:** Sırsız porselenden yapılmıştır. Buji şeklindedir. Otoklavda steril edilir. Günümüzde fazla kullanılmamaktadır.
- **Seitz Süzgeçleri:** Sıkıştırılmış asbestten yapılmış, etrafı gümüşle kaplıdır ve disk şeklinde metal elekleri vardır. Otoklavda steril edilir. Nadir olarak kullanılır.
- **Sıkıştırılmış Cam Tozu Süzgeçleri:** Cam tozlarının bir araya getirilip birleştirilmesinden oluşur. Cam hunilere monte edilerek kullanılır. Otoklavda steril edilir. Nadir olarak kullanılır.

8.1.2. Mikroorganizmaları Mekanik Tutma Mekanizması ile Tutan Süzgeçler

Bu amaçla ultra ve özellikle membran filtreler kullanılır. Membran filtreler inert selüloz asetat, polikarbonat veya teflon, naylon gibi çeşitli maddelerden yapılır. Daha çok inert selüloz membran filtre kullanılır.

İnert; kimyasal tepkimelere katılmayan, yapısal değişikliğe uğramayan maddelerin genel adıdır.

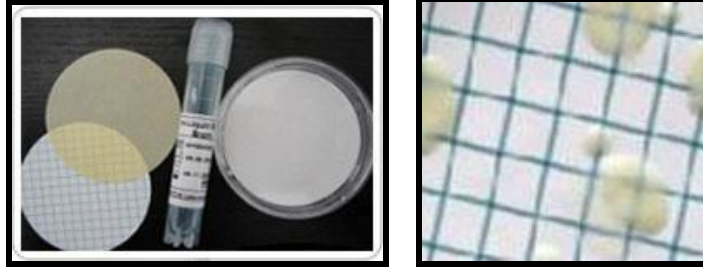
- **Membran Filtreler ile Süzme İşlemi:** Öncelikle sterilizasyon işlemi yapılır; süzgeç, süzgeç tutar, süzme işlemi sırasında sıvının konulacağı ve süzüntünün toplanacağı kaplar ayrı ayrı ambajlanarak otoklavda steril edilmelidir. Süzgeç diskleri süzgeç tutardan ayrı olarak petri kutularında, aralarına kurutma kağıtları konularak steril edilir. Steril edildikten sonra bir pensetle tutularak steril süzgeç tutarların içine konur. Süzme işlemi sırasında süzülecek sıvı tarafına pozitif ya da süzüntü tarafına negatif basınç uygulanır. Genel olarak çok az miktardaki sıvılar süzülürken süzülecek tarafa enjektör yerleştirilerek pozitif basınç verilir. Fazla miktardaki sıvıların süzülmesinde, süzüntünün toplanacağı kabın emziğine vakum pompaları yerleştirilerek negatif basınç uygulanır. Süzgeçlerden süzüntü geçerek sterilleme sağlanmış olur.



Şekil 8. 1: Filtre ve bölümleri

Membran filtrelerin önemli özellikleri şunlardır:

- 0,005-1 milimikrona kadar değişebilen çaplarda porları (gözenekleri) vardır.
- Tek kullanımlıktır.
- Disk şeklindedir, özel süzgeç tutarlara monte edilerek kullanılır.
- Filtre edilen sıvının çok azını tutar yani süzülen sıvı hacim olarak tutulduğu kadar azalır.
- Süzme işlemini daha hızlı yapar.



Resim 8. 1: Membran filtre ve bakterinin tutulması

8.1.3. Süzgeçlerin Denetlenmesi

Süzgeçler, dokularında meydana gelen çatlak ve yırtıklar sebebiyle yetirince süzme işlemi yapamayabilir. Süzgeçlerde çatlak ve yarık kontrolü değişik yöntemlerle yapılır.

- **Süzüntünün İncelenmesi:** Süzme işlemi sonrası oluşan süzüntüden alınan örnekler, üçer tane ayrı aerop ve anaerop besiyerine ekilir. İnkübasyona bırakılır. Yirmi yedi gün boyunca her gün üreme olup olmadığına bakılır; üreme olmazsa filtrelerin sağlam olduğu anlaşılır.
- **Süzüntünün Yeniden Süzülmesi:** İlk süzülen süzüntü, ikinci bir kez tekrar bir süzgeçten süzülür. İkinci işlemde kullanılan yeni süzgeç, steril bir pensle tutularak steril makasla ikiye kesilir. İki parçanın biri aerop, diğeri anaerop besiyerine ekilerek inkübasyona bırakılır. Üç beş gün sonra üreme olması halinde ilk süzgecin sağlam olmadığı anlaşılır.
- **Köpürme Noktasının Saptanması:** En çok membran filtreler için kullanılan bir yöntemdir. Denetleme işlemi, süzme işleminden önce ve sonra yapılır. Kullanılan süzgecin sağlamlığı, başta ve sonda kontrol edilir. Bu nedenle bu denetleme yöntemi, en kullanışlı ve en hızlı sonuç veren yöntemdir. Süzgeçten önce steril saf su süzülür. Süzme bittikten sonra süzgecin gözeneklerinde bir miktar su takılı kalır. Süzgecin üzerinden yavaşça pozitif ya da altından negatif basınç (vakum) uygulandığında, kılcal gözenekler nedeniyle süzgeç gözeneklerine takılmış olan su, uygulanan basınca rağmen bir noktaya kadar yerinden atılamaz. Basınç biraz daha artırılırsa su yerinden ayrılırken köpürme görülür. Bu köpürme noktasında uygulanan basıncın miktarı, süzgeç gözeneklerinin çapı ile ters orantılıdır. Gözenek çapı küçük ise basınç büyük, basınç büyük ise gözenek çapı küçük değerde olur.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda, filtrasyon ile sterilizasyon yapabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Süzme işleminde kullanılacak süzgeç, süzgeç tutar ve süzüntü kaplarını, ambalajlayarak otoklavda steril ediniz,	<ul style="list-style-type: none">➤ Süzüntüde kullanılacak araç-gereçleri ambalajlayarak sterilizasyonunu yapınız.➤ Süzgeç diskleri, arasına kurutma kâğıdı yerleştirdikten sonra petri kutusuna koymayı unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Süzgeci, süzgeç tutara yerleştiriniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Süzgeç diskini steril bir pensetle tutarak süzgeç tutara yerleştiriniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Steril süzüntü kabının üzerine filtre tutucuyu yerleştiriniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Steril süzüntü kabının üzerine filtre tutucuyu steril penset yardımıyla yerleştiriniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Az miktardaki süzüntü sıvıları için fitreye enjektörle pozitif basınç uygulayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Enjektörü, süzülecek sıvı tarafına (kabin ağzına) yerleştiriniz ve pistonu iterek pozitif basınç uygulayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Miktarı fazla süzüntü maddelerin süzülmesinde süzüntü kabının emziğine vakum pompası bağlayarak vakum uygulayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Vakum pompasını çalıştırırken ani yüksek basınç vermemeye çalışınız, süzgeçlerin yırtılmasını önleyiniz.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Isıtma işlemine duyarlı serum, aşı, ilaç, enzim gibi bazı özel sıvıların sterilize edilmesinde kullanılan yöntem hangisidir?
A) Buharla sterilizasyon
B) Filtrasyonla sterilizasyon
C) Işınlamayla sterilizasyon
D) Kimyasallarla sterilizasyon
E) Kuru sıcak havayla sterilizasyon
2. Mikroorganizmaları, mekanik olarak süzen filtre hangisidir?
A) Berkefeld filtre
B) Seitz filtre
C) Chamberland filtre
D) Membran filtre
E) Pastör filtre
3. Aşağıdakilerden hangisi, membran filtre için söylenemez?
A) Mikroorganizmaları adsorbsiyon mekanizması ile tutar
B) Hızlı süzme işlemi yapar
C) Değişik çaplarda gözenekleri vardır
D) Tek kullanımlıdır
E) Selüloz, teflon, naylon gibi maddelerden yapılıdır

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-9

AMAÇ

Bu faaliyette kazandığınız bilgilerle ışınlarla sterilizasyonu tekniğine uygun yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Güneş ışığının yarar ve zararları hakkında bilgi edininiz.
- Radyasyon hakkında bilgi ediniz.

9. IŞINLARLA STERİLİZASYON

9.1. Işınlarla Sterilizasyon

Sıcaklık, filtrasyon ve kimyasal madde ile steril edilemeyen maddelerin sterilizasyonunda kullanılır. Laboratuvarlarda, ışınlarla yapılan sterilizasyonun uygulama alanı sınırlıdır. İyonize edici ve iyonize edici olmayan ışınlar olmak üzere iki gruba ayrılır.

9.1.1. İyonize Edici Işınlar

İyonize edici ışınlar, gama ve x ışınlarıdır. Gama ve x ışınlarının elde edilmeleri oldukça pahalıdır.

Işınlar; kan aktarımında kullanılan setler, protez, sentetik kalp kapakçıkları, sargı ve dikiş materyalleri, katgüt, katater vb. gibi cerrahi malzemelerin sterilizasyonda kullanılır, mikroorganizmaların nükleik asit, enzim ve protein yapılarını bozar.

Çalışanların mutlak surette korunması gerekir. Aksi takdirde X ve gama ışınları insan organizmasına zarar verir. Özellikle genetik hücre ve kan hücrelerinin yapısını bozarak mutasyona yol açar. Anemi, lösemi, kısırlık vb. gibi hastalıklara neden olur.

Işınlar; kısa süreli uygulandığında dezenfeksiyon, uzun süreli uygulandığında ise sterilizasyon sağlar.

9.1.2. İyonize Edici Olmayan Işınlar

İyonize edici olmayan ışınlar ultraviyole (UV) ışınlarıdır. İyonize edici ışınlarla göre etkileri daha azdır. Bu nedenle genelde ortam havası ve düz yüzeyler steril edilir. Ultraviyole ışınları; ameliyathaneler, laboratuvarlar, antibiyotiklerin hazırlandığı odalar ve aşı odalarının sterilizasyonunda kullanılır. Bu amaçla bakteriyoloji ve mikoloji laboratuvarlarında genellikle ultraviyole lambaları kullanılır.



Resim 9.1: Tavana monte edilmiş ultraviyole (UV) lambası

Ultraviyole ışınları, mikroorganizmalar üzerine bakterisid etkiye sahiptir. Güneşten gelen ışınlar da ultraviyole ışınlarıdır. Bu ışınlar camdan geçmez, deri üzerine ve göz retinasına zarar verir. Göze direkt geldiğinde zararlı olup körlüklere neden olur. Çalışma sırasında fluoresans mikroskobu ve ultraviyole lambası kullanılırken korunma amacıyla özel filtreler ve gözlükler kullanmak gerekir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını tamamladığınızda, ışınlarla sterilizasyon yapabileceksiniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
➤ Laboratuvar kapı ve pencerelerini kapatınız.	➤ Kullanılacak malzemeleri çalışma alanına koyunuz, ➤ Laboratuvar dışına çıkıp kapıyı kapatınız.
➤ Ultraviyole lambasını açınız.	➤ Dışardan elektrik düğmesi ile ultraviyole lambasını açınız.
➤ Laboratuvara girmeden 30 dakika dışarıda bekleyiniz,	➤ Bekleme süresine uyunuz.
➤ Elektrik düğmesi ile ultraviyole lambasını kapatınız.	➤ Dışarıdaki elektrik düğmesini kapatınız.
➤ 15 dakika bekleyiniz.	➤ En az 15 dakika beklemeden kesinlikle laboratuvara girmeyiniz, ➤ Bekleme süresine uyunuz.
➤ Süre sonunda koruyucu giyerek laboratuvara girip çalışınız.	➤ Mutlaka önlük, gözlük, bone, galoş vb. giyiniz.
➤ Çalışma bittikten sonra kapı ve pencereleri açıp laboratuvarı havalandırınız.	➤ Çalışma esnasında kapı ve pencereleri açmayınız, ➤ İşiniz bittiğinde kapı ve pencereleri açarak laboratuvardan çıkınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

1. Plastik kalp kapakcığı, protezler, kan setleri, katküt, katater vb. gibi malzemeler, ışınları ile sterilize edilir.
2. İyonize ışınlar, vücutta kan hücreleri ve hücrelerin degenerasyon ve mutasyonuna yol açar.
3. Camdan geçemeyen ve göze dik geldiğinde göz retinasına zarar veren ışınlar, ışınları adı verilir.
4. Işınlarla sterilizasyonda, genellikle laboratuarlarda ultraviyole kullanılır.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Ökaryot mikroorganizmalara göre daha basit bir hücre yapısına sahip, gerçek bir hücre çekirdeği olmayan prokaryot mikroorganizma, aşağıdakilerden hangisidir?
A) Protozoon
B) Bakteri
C) Alg
D) Mantar
E) Virus
2. Sürekli aynı yönde bölünen, birbirleriyle ayrılmadan kısa veya uzun zincirler oluşturan koklara ne ad verilir?
A) Streptokoklar
B) Diplokoklar
C) Stafilokoklar
D) Monokoklar
E) Tetrakoklar
3. Genellikle çomak ve burğu şeklindeki bakterilerde bulunan, değişik sayıda, iplik şeklinde uzantılar olan hareket organeli, aşağıdakilerden hangisidir?
A) Pilus
B) Plazmoid
C) Viroid
D) Flagella
E) Kapsid
4. Aşağıda, riketsiyaların yapısına ait özellikler sıralanmıştır. Bu özelliklerden hangisi, viruslarla benzerlik gösterir?
A) Diğer bakterilere göre daha küçüktürler.
B) İkiye bölünme yoluyla çoğalırlar.
C) Genellikle hareketsizdirler.
D) Antibiyotiklerden etkilenirler.
E) Üremeleri için canlı ortam gereklidir.

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

5. Mikroorganizmaların adlandırılması 18. yy da yaşamış bilim adamı İsveçli' Carl Von_Linne'nin koyduğu,kuralına göre yapılır.
6. Tam bir hücre yapısı göstermeyen, tek başına metabolizma faaliyeti bulunmayan.....RNA veya DNA yapısında nükleik asit, kapsit bazılarında zarftan oluşan yapıya sahip mikroorganizmadır.

7. İyi bir dezenfektanda aranacak önemli özelliklerden biri de dezenfektanınetkisinin yüksek olmasıdır?
8. Suların, çiğ meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda,kullanılır.
9. Sabunlara antibakteriyal özellik kazandırmak için yapılarınave heksaklorofen gibi fenol türevleri katılır.
10. Deri antisepsisi amacıyla%70'lik sulu çözeltisi kullanılır.
11. Etilen oksit saf halde tahriş edici ve patlayıcı olduğundan veyakarıştırılarak kullanılır.
12. Koch kazanı ilede.....saat tutulmak suretiyle sterilizasyon yapılır.
13. Tindalizasyonda çözeltiler°C'degün süreyle 30 dakika; aşı,kan,serum,besiyeri gibi maddeler°C'de 60 dakika benmaride tutularak sterilize edilir.
14. Sterilizatörün bulunmadığı kırsal kesimlerde,yoluyla.sterilizasyo yapılır.
15. Pasteur fırınında,hava akımı altında sterilizasyon yapılır.
16. Günümüzde süzme (filtrasyon) işleminde en çok,filtre kullanılır.
17. İyonize edici veışınlar; kan aktarımında kullanılan setler, protez, sentetik kalp kapakçıkları, sargı ve dikiş materyalleri, katgüt, katater vb. gibi cerrahi malzemelerin sterilizasyonda kullanılır.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ 1'İN CEVAP ANAHTARI

1	D
2	B
3	C
4	A
5	E

ÖĞRENME FAALİYETİ 2'NİN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	A
3	E
4	C

ÖĞRENME FAALİYETİ 3'ÜN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	C
3	D
4	E

ÖĞRENME FAALİYETİ 4'ÜN CEVAP ANAHTARI

1	D
2	B
3	A
4	C
5	E

ÖĞRENME FAALİYETİ 5'İN CEVAP ANAHTARI

1	E
2	C
3	B

ÖĞRENME FAALİYETİ 6'NİN CEVAP ANAHTARI

1	jelatin, şeker
2	üç gün
3	steril
4	malzemelerin

ÖĞRENME FAALİYETİ 7'NİN CEVAP ANAHTARI

1	kızıl
2	bunzen/bek
3	Kontaminasyonunu

ÖĞRENME FAALİYETİ 8'İN CEVAP ANAHTARI

1	B
2	D
3	A

ÖĞRENME FAALİYETİ 9'UN CEVAP ANAHTARI

1	gama ve x
2	genetik
3	ultraviyole
4	lambası

MODÜL DEĞERLENDİRME CEVAP ANAHTARI

1	B
2	A
3	D
4	E
5	çift ad
6	virüsler
7	bakterisit
8	klor
9	krezol
10	alkolün
11	karbondioksit veya ozon
12	100 °C - yarm
13	80-100, üç gün, 56-60
14	kaynatma
15	kuru sıcak
16	Membran
17	X - gama

KAYNAKÇA

- TEMİZ Ayhan, **Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri**, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 2000.
- BİLGEHAN Hakkı, **Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilmi**, (11 Baskı), İzmir, 2005.
- BİLGEHAN Hakkı, **Klinik Mikrobiyolojik Tanı**, (4. Baskı), İzmir, 2004.
- **Klinik ve Uygulamalı Mikrobiyoloji Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi Sağlık Personeli Önlisans Eğitimi**, Eskişehir, 1993.
- POLAT Şeyda, Sağlık Meslek Liseleri İçin Ders Kitabı (Laboratuvar Bölüm), **Genel Mikrobiyoloji**, Ankara, 2002.
- HAYRAN KOCAGÖZ Murat, **Tanımlı Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvar El Kitabı**, Ankara, 1991.
- ÖZATALAY A. Necdet, **Mikrobiyoloji ve Bağışıklama**, Sağlık Meslek Liseleri Ders Kitabı, Hatipoğlu Basım ve Yayımları, Ankara, 1995.
- BARUTCU Gülşen, **Mikrobiyoloji Ders Kitabı**, Barutcu Yayıncılık, Ankara, 2001.