

## STERİLİZASYON

Mustafa KAHRAMAN\*

Herhangi kullanılacak bir maddenin veya yiyeceğin mikropsuz hale getirilmesine STERİLİZASYON denilir. Bunu dezenfeksiyon ile karıştırmamak gerekir. Dezenfeksiyon bulaşık bir maddenin mikroplarını öldürmek için kimyasal vasıtalarla yapılan işlemdir.

### HAREKET

Bakteriyolojide, muhtelif maksatlar için harareten istifade edilir.

- a) Bakterilere uygun harareti temin edip üretmek. Etüvler.
- b) Yüksek hararet dereceleri kullanarak bakterileri öldürmek.

### STERİLİZASYON CİHAZLARI

#### Etüvler:

Bakterilerin ekilen besi yerlerinde üreyebilmeleri için uygun bir hararete ihtiyaç vardır. Etüvler bu gaye için yapılmıştır. Etüvler havagazı, elektrik veya petrol ile ısıtılan tek veya çift kapaklı dolaplardır. Su veya hava ile ısınanları vardır. En çok su ile ısınanları kullanılır. Bunlar iki cidarlı ve bakırdan yapılmışlardır. Su iki cidar arasında bulunur. Hava ile ısıtılanları tek cidarlıdır.

Etüvlerde, etüvün içi ile temas halinde bulunan termometre bulunur. Bununla ısı kontrol edilir. Harareti sabit tutmak için de regülatörler bulunur.

Etüvler birçok patojen bakteriler için 37°C de çalıştırılırlar. Bazı hallerde 22°C - 30°C - 38,5°C - 42°C ye ayarlamak icap eder. Su ile çalışan etüvde istenilen harareti elde etmek için üst taraftaki delikten kaynar su dökülür. Derecenin yükseliğine ve alçaldığına bakılır. Regülatörle ayarlanır.

Elektrikle çalışanlarda ise regülatördeki vida çevrilerek istenilen derecede ayarlanır. Sonra artık regülatör bu işi kendi kendine ayarlar<sup>1.2.3</sup>.

Bir de havadaki miktardan daha fazla CO<sub>2</sub> kasafetini elde etmek üzere hususi tarzda çalışan etüvler yapılmıştır. Bunu biz de yapabiliriz. Kültürü yapılmak iste-

\* Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi.

nilen bakteri tüp veya ekildikten sonra bunlar büyük bir cam kaba konulur ve bu kaba aynı zamanda yanmakta olan bir mum dikilir. Sonra cam kabın kapağı hava girmeyecek şekilde kapatılır. Kabın içinde mum söndüğü zaman takriben % 10 CO<sub>2</sub> bulunmaktadır.

## STERİLİZASYON VASATLARI

Bakterilerin öldürülmesi için hararet başlıca 3 şekilde kullanılır<sup>1.4.5.</sup>

1- *Yakma*: Öze hararetle bozulmayan maddeler, aletler, düz cam çubuklar, havagazı veya ispirto lambası alevinden birkaç defa geçirilerek sterilize edilirler. Kıymetsiz eşyalar yakılırlar.

2- *Rutubetli Hararet*: Mikroplar rutubetli hararete çok hassastırlar. Bu da mikrobun nevine, yerin terkebine, pH'sına, kültürün eskiliğine, suspansiyonun kesafetine ve bakterinin sporlu olup olmadığına göre değişir.

a) Kaynar su: Vegetatif bakteriler bu derecede çabucak ölürlür. % 1-2 soda iyi netice verir.

Antrax sporları çok çabuk (12-15') ölür. Tetanoz, gazlı flegman ve toprak bakterilerinin sporları birkaç saat dayanır. Daha ziyade dezenfeksiyon için kullanılmaktadır. Mikroplu cam eşyalar, şırıngalar, madeni aletler, porselen kaplar, kirlenmeyip yıkanabilir çamaşırlar dezenfekte edilir. 15' kaynatmak.

b) Su buharı: Bu maksat için ya derecesi kaynar suyun derecesi olan 100°C ye müsavi olan doymuş ve cereyan halindeki su buharı veyahutta derecesi 100°C den fazla olan tazyikli su buharı kullanılır.

100°C'ye müsavi olanlar için Koch kazanları, 100°C'nin üstündekilerde de otoklavlar misal verilebilir.

### KOCH KAZANI

Doymuş ve cereyan halindeki su buharı ile 100°C'de sterilizasyon için kullanılmaya mahsus 90 cm yükseklikte kalın ve silindirik bir kazandan ibarettir. 2-3 litre su konulur (Sepet, kapanana kadar), kapak kapatılır. Termometre 100°C'yi gösterir.

Bu cihazda bakteriolojide kullanılan ve 100°C'den yüksek hararetle terkebi bozulabilen mesela; karbonhidratlı besi yerleri sterilize edilir. Bu maksatla vegetatif şekilleri yarım saatte, sporlar daha uzun zamanda ölürlür. Bunun için 3 gün sıra ile yarımsaar saat sterilize edilirler.

### OTOKLAVLAR

Tazyikli su buharı ile çalışan cihazlardır ve yüksek hararetle sterilizasyon yapmak için kullanılır.

2-3 atmosfer basınca dayanıklı kalın ve pirinçten yapılmış kapaklı kazanlardır. Kapağın üzerinde musluk, emniyet subabı, manometre, ayrıca bir de termometre bulunabilir.

Çalıştırılması şu şekilde yapılır:

- 1- Kazan içerisine sepet hizasına kadar su konulur, eşyalar yerleştirilir.
- 2- Kapaklar kapatılır, vidalar karşılıklı olarak sıkıştırılır.

- 3- Musluk açılır ve havagazı ocağı yakılır.
- 4- Üstteki musluktan su buharı çıkar, soğuk su buharı kesildikten sonra musluk kapatılır.
- 5- Tazyik 1 atmosfer olunca 120°C'de bunu havagazını kısıp ayarlayabiliriz.
- 6- Muayyen müddet bittikten sonra ocak söndürülür. Tazyik sıfıra düşünceye kadar beklenir. Kapak ondan sonra açılır.
- 7- Tazyik sıfıra düşüncü kapakta olan musluk açılarak içerdeki su buharı dışarı alınır. Sonra kapak açılarak sterilize edilen eşyalar dışarıya alınır<sup>2.6.7.8</sup>.

Besi yerleri, mahlüller, mikroplu veya temiz tüp, pipet, balon ve petri kutusu gibi aletler sterilize edilirler. Tüp ve balonlardaki pamukların ıslanmaması için kağıt külâh geçirilir.

Otoklavın içinde hararetin, istenilen dereceye yükselip yükselmediği, üzerindeki manometre veya termometreden başka ayrıyeten de kontrol edilmesi lazımdır. Bu maksat için muhtelif vasıtalar vardır.

Toz kükürt : 115°C de

Benzonaftol : 110°C de

Antigirm : 113°C de

Rezorsin : 119°C de gibi muayyen derecelerde eriyen maddeleri ihtiva

eden stikker tüpleri otoklav içine konulur. Eriyip erimeğine bakılarak istenilen derecenin husule gelip gelmediği anlaşılır. Bu maksat için maximal termometrelerle, hususi bakteri ve sporları bulaştırılmış, sarılmış steril bezler veya ipek iplikler besiyerlerine ekilerek mikropların ölüp ölmediğine bakılır<sup>8</sup>.

## TYNDALİSATION

Fraksiyone Sterilisation:

Şırınga edilecek bazı ilaç ve serumlarla, mikropları üretmek için kullanılan bilhassa serumlu besi yerleri 24 saat ara ile 3 gün 56-60°C'de birer saat benmaride ısıtılmasıdır.

Böyle yüksek hararete dayanmayan ve bozulan mayilerin bu suretle ilk günü vegetatif şekilleri, diğer günler ise vegetatif hale geçen sporlar ölürler (Tyndall'e göre).

Bazılarına göre de sporların zarlarının değişerek su alabilecek hale geldiklerini ve bunun neticesi hararete karşı hassas olduklarını kabul etmektedirler<sup>3.8</sup>.

## KURU SICAK HAVA

Bakteriler üzerine nemli sıcak havadan daha az tesir eder. Yüksek derecedeki kuru sıcak havada birçok eşyalar ve pamuk zarar görür. Bunun için yalnız cam veya madenden yapılmış bazı eşyaların sterilizasyonu için kullanılır. Bunun için; KURU SICAK HAVA STERİLİZASYONU vardır.

En önemlileri ve ilk şekli olan pastör fırını vardır. Bugün bu maksatla kullanılan özel olarak yapılmış, dikdörtgen şeklinde havagazı ve elektrikle ısıtılan cihazlar vardır. Rafları vardır. Sterilize edilecek olan eşyalar bu raflara konulur. Pipet, tüp, petri kutusu, kadeh gibi cam aletlerle porselen havan-porselen süzgeç ve ameliyat

aletleri gibi madeni eşyalar sterilize edilir. Mayi ve organik maddeler, besi yerleri burada sterilize edilemez. Çünkü yüksek hararete bozulurlar.

Sterilize edilecek cam kapların kırılmaması için kurutulması lazımdır. Bunun için önce etüvde eşyalar kurutulur. Sonra konulur. Bundan başka eşyaları örtmek, kapatmak lazımdır. Pipetler pamuklanır, kağıtla sarılır. Petri kutuları özel teneke kutularına konulabilir. Aletler konulur. Ocak yakılır. 170°C ye ayarlanır. Bu derecede 1 saat veya 150°C de 1,5-3 saat tutmak lazımdır. Hararet 100°C nin altına düşmeden eşyalar alınmaz. Zira kırılabilir.

## SOĞUK

Soğüğün doğrudan doğruya mikroplar üzerine tahrip edici bir tesiri yoktur. Bunun için birçok patojen mikropların kültürleri buzdolabında muhafaza edilirler. Neisseria meningitis ve Neisseria gonorrhoeae gibi mikroplar soğukta çabuk ölürlər. Bu bakımdan bakteri ve virusları muhafaza etmek için aşağı dereceler kullanılacağı zaman dondurma ve eritme işleminin süratle yapılması lazımdır. Dondurmak için CO<sub>2</sub> buzu ve alkol karışımı, eritmek için ampulleri 37°C de suda süratle çevirmek kafidir<sup>4.8.9</sup>.

## KURUTMA

Bakteri hücrelerinin yapısındaki suyu almak sureti ile kurutma ameliyesi bütün bakteriler için aynı değere sahip değildir. Örnek: Mycobacterium tuberculosis, Neisseria gonorrhoeae'ye nazaran daha çok mukavimdir.

Bundan başka kuruma sürati, hararet derecesi ve bakterilerin bulunduğu yerin tabiatına bağlı olarak değişebilir. Albuminli vasat sudaki suspansiyonuna nazaran bakterileri daha ziyade muhafaze eder.

Sporlar kuruluğa dayanıklıdır. Antrax sporları gibi. Adi hararete yapılan kurutma metodları ile harap olan maddeleri örn.; bakteri, virus, serum, komplement ve bazı antijenler ile fermentleri bu harabiyetten korunmak için ve onları uzun müddet muhafaza edebilmek için aşağı derecelerde donmuş bir halde iken kurutma metodu tatbik edilir ki, buna LYOPHİLİSATION denilir. Toz v.s. bu suretle uzun bir müddet saklanabilir.

## ZİYA

Güneş ışını ancak enerjiyi ışıdan alan bakteriler için lüzumludur. Diğer bakteriler üzerine zararlı tesirleri vardır, öldürür. En müessir şuaları ultraviole ve bunlardan da 2500 A dalga uzunluğundaki ultraviole şuaları mikropların antijenlerini fazla tahrip etmediğinden aşı istihsali ve ameliyat salonlarının ve tehlikeli mikrop- larla bulaşan laboratuvarların dezenfeksiyonu için kullanılır<sup>1.5.9.10</sup>.

Ticarette ultraviole şuası veren civa buharlı lambalar vardır.

## ELEKTRİK CEREYANI

Elektrik cereyanının doğrudan doğruya bir tesiri yoktur. Fakat öldürücü tesir yapan kimyasal değişiklikler husule getirilebilir (Klor ve ozon, hararet yükselmesi).

Bakterilerde genel olarak (-) elektriklilerdir. Fakat bu hücrenin yaşlanması veya ölümü ile değişebilir. Bundan başka hücrenin stoplazması ile sathında birbirinden farklı elektrik yükü vardır<sup>5.7</sup>.

## YÜKSEK TAZYİK

Ekseri bakteriler, maya hücreleri ve yosunlar 3000 ve sporlar ise 12000 atmosfer basınca dayanabilirler. Fakat basınç çok yüksek ve devamlı olursa hareket ve çoğalma gibi karakterlerini değiştirebilirler.

Plazmoliz ve plazmoptiz hadisesinde tesirli olur.

Plazmoliz:

Bakteriler yüksek osmotik basınçlı bir yerde buldukları zaman hücre sıvısı besiyerine doğru çıkar ve ekseriya da stoplazma hücrenin muayyen bir yerinde toplanır.

Plazmoptiz:

Az basınçlı yerde bakteri hücrelerine, besiyerinin suyu geçer, hücre şişer ve çatlar. Hücrenin ölümüne sebep olur. Örneğin, *Pastorella pestis*, plazmoliz olayında boyandığı zaman uç kısmı kuvvetli, ortaları hafifçe boyanmış gözükür<sup>1.9.11</sup>.

## ULTRA – SONLAR

Ultrasonlar, proteinleri tahrip ve bakterileri sterilize eder. Bu maksatla daha az değişmiş mikrop antijenleri elde edilir.

## FİLTASYON

Filtasyon, bir sıvı içinde bulunan katı parçaları ayırmak için mesamatlı bir cidardan veya zarlardan geçirmektir.

Kullanıldığı Yerler:

- 1- Aşağı hararete bozulabilen besiyerleri ve serum gibi maddelerin sterilizasyonu.
- 2- Sıvı kültürlerindeki bakteri toksinlerinin elde edilmesi.
- 3- Suların tasfiyesi.
- 4- Bir suda veya herhangi bir sıvıda tifo, kolera gibi bakterileri aramak için filtrede toplanan maddenin muayenesi için.
- 5- Virusların ayrılması ve büyüklüklerinin ölçülmesi için.

Çeşitleri:

- 1- Tazyik edilmiş silisyumlu diatom toprağından yapılmış olanlar.

En Önemlileri:

A- Berkefeld Filtreleri: Silindirik, içinde diatomdan ibaret bir filtresi ve altında bujiden ibarettir. Bu filtreler mesamatının büyüklüğüne ve süzme derecesine göre;

V = Çabuk süzen 8 - 17 m

W = Az süzen 3 - 4 m

N = Normal süzen 5 - 7 m mesamatlıdır.

## F İ L T R E L E R

Diatom toprağından  
yapılan filtreler  
(Berkefeld-Mendel)

Asbest Süzgeçler  
(Zeits)

Porselen filtreler  
(Pastör-Lam-  
merland)

Cam Tozu  
Filtreleri

Kollodyum  
Zarları

## T Ü P L E R

Hemoliz T.

Deney T.

Yavrulu T.

Durhaim T.

Patates T.

Buchner T.

## P İ P E T L E R

Otomatik P.

Pastör P.

Dereceli P.

Mikroskoplar  
Lam - lamel  
Çukur lam  
Öze - iğne

Balon  
Erlenmayer  
Petri kutuları  
Benmari = Serum inaktive edilmesi.

Alkalilerle  
(Sabun Natrium  
fosfat  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )

Deterjanlarla  
(Bakteriside  
funguside)

Okside eden asitlerle  
( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Nitrik asit  
Kromik asit)

B- Mandler Filtreleri: Bunlarda Berkefeld esasına göre yapılmıştır. Bunlardan da V - W - N işaretlerine tekamül etmek üzere üç derece vardır.

2- Sırsız porselenden yapılmış filtreler:

Bunlarda silindirik, bir ucu kapalı, içi boş ve bir ucu açıktır. F ve B markalı A Pasteur - Chamberland Filtreleri; bunlarda silindirik, bir ucu kapalı içi boş ve bir ucu açıktır. F ve B markalı büyükleri vardır. Aspirasyon ile süzülür. İçten dışa doğrudur. Memesiz olan  $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$ ,  $L_4$ , .....  $L_{13}$  işaretleri vardır. Vakum veya sutrombu ile elektrikle çalışan cihazlardan faydalanılan basınç 40 mm. Hg'yi geçmemelidir.

Kullanılan bujilerin dezenfeksiyonu için % 5 sodalı su ile kaynatmak veya % 5 kreozollü suda birkaç saat bırakmalıdır.

Bujilerin mesamatı kapanabilir. Porselen bujiler kızıl dereceye kadar hamlaem alevinden ısıtılarak veya hususi fırınlarda (1-5') ısıtılarak organik maddeleri ayırır. Isıtılmayan bujiler % 1 Potasyum permanganat mahlülünde birkaç saat sonra % 5 sodyum-bi-sülfid mahlülü süzülür. Bol su ile yıkanır ve süzülür.

3- Aspesten yapılmış olan filtreler:

A- Zeits Filtreleri:

Muhtelif büyüklükte daire şeklinde ve safiha şeklinde olmak üzere aspesten yapılmıştır. Basınç veya emme sureti ile süzme yapılıır.

Madeni kabın içine yerleştirilip vidaları iyice sıkılır. Mantarlı kısmı süzülecek vakum veya erlenmayere takılır. Kullanılan filtreler atılır. Bunların K işaretliileri sıvaları berraklaştırmak için EK ise bakteriler için kullanılır.

4- Cam tozu ile hazırlanan filtreler:

Çok ince toz halinde ve homojen toz edilmiş, sonra eritilerek küçük kurslar halinde hazırlanmış filtrelerdir. Filtreler kullanılmadan önce 120°C de 15' sterilize edilirler. Sağlam olmasına dikkat edilir.

5- Kollodyum zarları (Ultrafiltreler):

Bunlar alkol, eter, aseton karışımına introsellüloz ilave edilmiş kollodyum zarlardır. Bu mahlüle muayyen miktar amilik alkol ilavesi ile 0,80 m mesamath zar elde edilir. Geniş mesamat için su, dar yapılması için asetik asit ilave edilir. Bu mahlül geniş odalarda yayılarak tephir edilerek zar husule gelir. Bunlara Gradokoll zarları da denilir. Bunlar da çok az adsorbsiyon olduğundan ultrason filtreler adı da verilir. Ekseriya basınç, nadiren de emme ile süzülür. Virusların büyüklüğü de ölçülebilir. Çeşitli mesamath olan filtrelerde süzülen viruslu mayi deney hayvanlarına verilir. Öldürücü dozu geçiren bir evvelki filtrenin mesamathı virusun büyüklüğünü, çapını verir. Sulandırılmış ve 50-52°C ye kadar ısıtılmış mayiler kolay süzülür<sup>1.3.5.8.12.13</sup>.

## KAYNAKLAR

1. ARDA, M.: Genel Bakteriyoloji, A.Ü. Basımevi, Ankara (1978).
2. GÜRTÜRK, S.: Genel Viroloji, A.Ü. Basımevi, Ankara (1976).
3. ÖKTEM, Z.: Tıbbi Bakteriyoloji, Menteş Kitabevi Matbaası, İstanbul (1967).
4. SERTER, F., BİLGEHAN, H.: Klinik Mikrobiyoloji, E.Ü. Matbaası, İzmir (1967).
5. DAVIS, D.B., DULBECCO, R., EISEN, N.H., GINSER, S.H.: Microbiology, Harper International Edition, Pennsylvania (1980).
6. FREEMAN, B.A.: Burrows Textbook of Microbiology, W.B. Saunders Company, Washington (1979).
7. BOYD, R.F., MARR, J.J.: Medical Microbiology, Little, Brown and Company, Boston (1980).
8. FINEGOLD, S.M., MARTIN, W.J., SCOTT, E.G.: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. The C.V. Mosby Company, Saint Louis (1978).
9. VOLK, A.W., WHEELER, M.F.: Basic Microbiology, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Toronto (1980).

10. BURDON, K.L., WILLIAMS, R.P.: Microbiology, The Mcmillan Company, New York (1964).
11. JOKLIK, W.K., WILLETT, H.P., ANOS, D.B.: Zinsser Microbiology, Appleton-Century-Crofts, New York (1980).
12. GILLESPIE, J.H., TIMONEY, J.F.: Hagan and Bruner's in Fectious Diseases of Domestic Animals. Cornell University Press. Ithaca and London (1981).
13. PELCZAR, Jr. M.J., REID, R.D., CHAN, E.C.S.: Microbiology, Tata Mc Graw-Hill Publishing Company LTD. New Delhi (1977).