



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS

**OTOKLAV ÜNİTELERİNİN TEKNİK VE BİYOLOJİK
PERFORMANS ANALİZLERİ**

Gamze YOLERİ
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışmanlar
Prof.Dr. Aydın AKAN
Yrd.Doç.Dr. Mana SEZDİ

Ocak, 2011

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS

**OTOKLAV ÜNİTELERİNİN TEKNİK VE BİYOLOJİK
PERFORMANS ANALİZLERİ**

Gamze YOLERİ
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışmanlar
Prof.Dr. Aydın AKAN
Yrd.Doç.Dr. Mana SEZDİ

Ocak, 2011

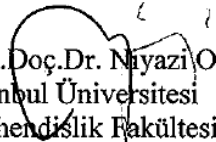
İSTANBUL

Bu çalışma 05/01/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi


Prof. Dr. Aydın AKAN (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr. Betigül ÖNGEN
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi


Yrd. Doç. Dr. Niyazi ODABAŞIOĞLU
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi

Yrd. Doç. Dr. Niyazi KILIC
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi


Yrd. Doç. Dr. Hakan DOĞAN
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca gösterdikleri her türlü destek ve yardımdan dolayı değerli hocalarım Prof.Dr. Aydın AKAN, Yrd.Doç.Dr. Mana SEZDİ ve Prof.Dr. Betigül ÖNGEN'e en içten dileklerle teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca çalışmamın uygulama kısmını destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen Uzm.Dr. Yaşar NAKİPOĞLU'na, tüm yardımlarından dolayı İ.Ü. Biyomedikal ve Klinik Mühendisliği Birimi çalışanlarına teşekkürü borç bilirim.

Ocak, 2011

Gamze YOLERİ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
TABLO LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	3
2.1. STERİLİZASYON	3
2.2. STERİLİZASYONUN VE DEZENFEKSİYONUN TARİHSEL GELİŞİMİ	3
2.3. STERİLİZASYON YÖNTEMLERİ	6
2.3.1. Isı İle Sterilizasyon	6
2.3.2. Kimyasal Maddeler İle Sterilizasyon	9
2.3.3. Süzme/Filtrasyon İle Sterilizasyon	10
2.3.4. Işınlama İle Sterilizasyon	11
2.4. DEZENFEKSİYON	12
2.4.1. Dezenfektan Maddeler Ve Etki Mekanizmaları	14
2.4.2. Dezenfektanların Kullanımı	17
2.4.3. Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Seçimi	17
2.5. OTOKLAV ÜNİTELERİ	18
2.5.1. Otoklavların Yapısı Ve Çalışma Prensibi	18
2.5.2. Sterilizasyonda Ön Temizlik Ve Paketleme	20
2.5.3. Sterilizasyon Sonrası İşlemler	23

2.5.4. Otoklav Çeşitleri	23
2.6. STERİLİTENİN KONTROLÜ.....	24
3. MALZEME VE YÖNTEM	30
3.1. MALZEME.....	30
3.1.1. Otoklav	30
3.1.2. Sıcaklık-Basınç Ölçüm Cihazı.....	32
3.1.3. <i>Bacillus subtilis</i> Ve Üreme Ortamı	34
3.1.4. Laboratuvar Aletleri.....	36
3.1.5. Fizyolojik Tuzlu Su	37
3.1.6. Bakteri Süspansiyonunun Ve Disklerin Hazırlanması.....	37
3.2. YÖNTEM.....	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	70
KAYNAKLAR	77
EK-A	84
EK-B	85
ÖZGEÇMİŞ	91

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3.1	: Dik tip otoklav (Hirayama Hiclave HV-85).....	30
Şekil 3.2	: Dik tip otoklavın iç hacmi (Hirayama Hiclave HV-85).....	31
Şekil 3.3	: Dik tip otoklavın kapak kilidi (Hirayama Hiclave HV-85).....	31
Şekil 3.4	: Dik tip otoklavın dijital LED göstergesi, kontrol paneli ve analog basınç göstergesi (Hirayama Hiclave HV-85).....	32
Şekil 3.5	: Sıcaklık-basınç ölçüm cihazı ekipmanları (Ebro EBI AE-S-2000).....	32
Şekil 3.6	: Veri kaydediciler	33
Şekil 3.7	: <i>B.subtilis</i> 'in mikroskopik görüntüsü	34
Şekil 3.8	: <i>B.subtilis</i> spor formu	35
Şekil 3.9	: Kullanılan vorteks (Janke & Kunkel) ve etüv (Memmert).....	36
Şekil 3.10	: Hazırlanan diskler.....	37
Şekil 3.11	: Pipet içine yerleştirilen disklerin konumları	38
Şekil 4.1	: Kontrol deneyinde üreyen <i>B.subtilis</i> kolonileri.....	39
Şekil 4.2	: 121°C, 15 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	40
Şekil 4.3	: 121°C, 15 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	41
Şekil 4.4	: 100°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri....	42
Şekil 4.5	: 100°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	42
Şekil 4.6	: 100°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	43
Şekil 4.7	: 100°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri....	44
Şekil 4.8	: 100°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	44
Şekil 4.9	: 100°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	45
Şekil 4.10	: 95°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	46
Şekil 4.11	: 95°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	46
Şekil 4.12	: 95°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	47
Şekil 4.13	: 95°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	48
Şekil 4.14	: 95°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	48
Şekil 4.15	: 95°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	49
Şekil 4.16	: 90°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	50
Şekil 4.17	: 90°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	50
Şekil 4.18	: 90°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	51
Şekil 4.19	: 90°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	52
Şekil 4.20	: 90°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	52
Şekil 4.21	: 90°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	53
Şekil 4.22	: 85°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	54
Şekil 4.23	: 85°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	54
Şekil 4.24	: 85°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	55
Şekil 4.25	: 85°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	56
Şekil 4.26	: 85°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	56
Şekil 4.27	: 85°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	57
Şekil 4.28	: 80°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	58
Şekil 4.29	: 80°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	58

Şekil 4.30	: 80°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	59
Şekil 4.31	: 80°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	60
Şekil 4.32	: 80°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	60
Şekil 4.33	: 80°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	61
Şekil 4.34	: 75°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	62
Şekil 4.35	: 75°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	62
Şekil 4.36	: 75°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	63
Şekil 4.37	: 75°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	64
Şekil 4.38	: 75°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	64
Şekil 4.39	: 75°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	65
Şekil 4.40	: 70°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	66
Şekil 4.41	: 70°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	66
Şekil 4.42	: 70°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	67
Şekil 4.43	: 70°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.....	68
Şekil 4.44	: 70°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği	68
Şekil 4.45	: 70°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği	69

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1	: Otoklavla sterilizasyonda kullanılan kimyasal indikatörler	26
Tablo 3.1	: TSA besiyerinin içeriği (Oxoid, CM0131).....	36
Tablo 4.1	: 100°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları ..	42
Tablo 4.2	: 100°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları ..	44
Tablo 4.3	: 95°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	46
Tablo 4.4	: 95°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	48
Tablo 4.5	: 90°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	50
Tablo 4.6	: 90°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	52
Tablo 4.7	: 85°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	54
Tablo 4.8	: 85°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	56
Tablo 4.9	: 80°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	58
Tablo 4.10	: 80°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	60
Tablo 4.11	: 75°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	62
Tablo 4.12	: 75°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	64
Tablo 4.13	: 70°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	66
Tablo 4.14	: 70°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları	68

ÖZET

OTOKLAV ÜNİTELERİNİN TEKNİK VE BİYOLOJİK PERFORMANS ANALİZLERİ

Bu tez çalışmasının amacı, sterilizasyon ünitelerinde kullanılan otoklavların klinik mühendisliği kapsamında kontrol süreçlerinin bilimsel olarak gerçekleştirilmesini sağlamaktır.

Sterilizasyonda kullanılan otoklav ünitelerinin medikal kalibrasyon ölçümlerinin ve koruyucu bakım çalışmalarının periyodik olarak gerçekleştirilmesi, enfeksiyonların ve kazaların önlenmesi açısından önemlidir.

Çalışmada biyolojik performans analizi amacıyla, biyolojik indikatör olarak *Bacillus subtilis var. niger* (ATTC 9372) suşu kullanılmıştır. Bu bakteri ile bir süspansiyon hazırlanmış ve 6 mm çapında steril filtre kağıdından hazırlanan diskler bu süspansiyonun içine konulup sıvıyı emmesi sağlanmıştır. Spor içeren diskler etüvde 2 saat bekletilerek kurutulmuştur.

Buharlı sterilizasyonda düz yüzeyli malzemelere göre kanüler yapıları malzemelerin içerisinden buhar geçişinin zor olacağı düşünülerek, otoklavın performansını değerlendirmek için deneylerde kullanılmak üzere kanüler yapıda olan pipetler seçilmiştir. Hacimleri 10 ml ve 1 ml olan, farklı çaplara sahip iki tip pipet kullanılmıştır. Pipetlerin içerisinde üç ayrı noktaya hazırlanan diskler yerleştirilerek buharın pipet içinde hangi noktaya ne kadar ulaştığını tespit etmek amaçlanmıştır.

Standart sterilizasyon değerlerine göre farklı sıcaklık ve sterilizasyon süresine ayarlanan otoklava her deneyde hazırlanan pipetlerden üç adet 10 ml'lik ve üç adet 1 ml'lik pipet yerleştirilmiş ve deney sonuçları ortalama alınarak değerlendirilmiştir. Deneyler sonunda otoklavdan alınan pipetler içerisindeki diskler çıkarılarak steril fizyolojik tuzlu su içeren tüplere alınmış ve her tüp vorteks ile 3 kez 30 saniye karıştırıldıktan sonra steril ölçülü öze yardımı ile TSA besiyerine ekim yapılmıştır. Kırksekiz saat sonra mikrobiyal ölüm oranları değerlendirilmiştir.

Farklı dereceler ve daha kısa sürelerde deneyler yaparak bu durumlarda sterilizasyon performansının karşılaştırılabilmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda deneyler sırasında sıcaklık-basınç ölçüm cihazıyla otoklavın etkinliğini teknik olarak değerlendirmek için ölçümler yapılarak sterilizasyona ait proses grafikleri ve ayrıntı grafikleri elde edilmiştir.

Yapılan deneyler biyolojik performans bakımından değerlendirildiğinde, malzemelerin standart kabul edilen 121°C 15 dakika sterilizasyon değerlerinden daha düşük

değerlerde de steril kalabildiği görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal üreme gözlenmemiştir.

121°C’de 15 dakika süreyle uygulanan deneyde elde edilen grafiklere göre otoklavın ayarlanan sıcaklık ve basınç değerlerini doğru olarak uyguladığı belirlenmiştir. Fakat sterilizasyon sıcaklığı ve süresi standart olarak kullanılan değere göre azaltıldıkça sıcaklık-basınç ölçüm cihazından elde edilen grafiklerde dalgalanmalar meydana geldiği görülmektedir. Cihaz 121°C’de 15 dakika yapılan sterilizasyonda kararlılık göstermesine rağmen sıcaklık ve süre değerleri azaltıldığında kararsızlık göstermeye başlamıştır. Buhar oluşturabilmek için basıncın arttığı, bu sırada sıcaklığın da ayarlanan değer ve kabul edilebilir değer aralığının üzerine çıktığı, 1 dakikalık kısa bir sterilizasyon süresinde de otoklav denge sağlayamadan soğumaya geçtiği tespit edilmiştir. Ancak bu dalgalanmaya rağmen, amaçlanan sterilizasyon sağlanmıştır. Böylece hem teknik parametrelerin (sıcaklık-basınç) ölçülmesi, hem de biyolojik kontrollerin yapılması sağlanmıştır.

SUMMARY

TECHNICAL AND BIOLOGICAL PERFORMANCE ANALYSIS FOR AUTOCLAVE UNITS

The aim of this study is to perform technically the control processes of autoclaves, which used in sterilization units, within the scope of clinical engineering.

Carrying out the medical calibration measurements and preventive maintenance studies of the autoclave units are important in terms of preventing infections and accidents.

Bacillus subtilis var niger (ATTC 9372) strain was used as a biological indicator for the biological performance analysis. Bacterial suspension was prepared with this strain. The discs with 6 mm diameter that was prepared from sterile filter paper were put in this suspension and achieved to absorb the suspension. Discs, which contain the spores, were dried in the oven for two hours.

In steam sterilization, according to sterilization of the flat-surface materials, cannular materials' sterilization is thought to be difficult because of passing through the steam inside from the cannula. For this reason, pipettes were chosen as a cannular material. Two types pipettes were used which have 10 ml and 1ml volume. Discs were placed on three different points in the pipettes to determine how much steam was contact with the discs and up to which point the steam has moved.

The autoclave was set different temperature and sterilization time value according to standards. In every experiment, three of each type pipettes were placed in autoclave and the results of the experiments were evaluated based on the average. After every experiment, discs were taken from the pipettes and put in tubes which contain sterile physiological salt water. Every tube were mixed 3 times for 30 seconds and then cultivated in TSA. Petri dishes were kept 48 hours in the oven.

The aim of using different temperature and shorter time values is to compare the performance of sterilization in these situations. Temperature-pressure measurement equipment was used to analyze technical efficiency of autoclave during the experiments. The results of the experiments that applied under different temperature and pressure values have given by process graphics and detail graphics.

When the experiments are evaluated in terms of the biological performance, it was seen that the materials have been sterile at lower values than observed standart sterilisation value (121°C 15minutes). There wasn't occurred any microbial growth.

According to the graphics that obtained from the experiment, which was performed at 121°C for 15 minutes, it was seen that the autoclave implemented the set temperature and time values correctly. But the sterilization temperature and time values were decreased under the value used as a standard, the fluctuations were seen at the graphics which have been obtained from the measurements performed by using the temperature-pressure measurement device. The instability has begun to occur at reduced temperature and time values, despite the autoclave was stable at 121°C for 15 minutes. While the pressure increased to create the steam, the temperature increased above the set value and the range of acceptable values, too. Imbalance has been determined at 1 minute sterilization time. However, despite of these fluctuations, the intended sterilizations have provided. Thus, both the measurement of technical parameters (temperature-pressure) and biological controls have been executed.

1. GİRİŞ

Sterilizasyon; bir madde ya da cismin üzerinde veya içinde bulunan mikroorganizmalardan tamamen arındırılma işlemidir [1]. Sterilizasyon işlemleri, gıda sektöründen ilaç sektörüne, hastanelerden okullara kadar geniş bir alanda gerekmekte ve uygulanmaktadır. Sterilite, insan sağlığı açısından büyük önem teşkil etmektedir. Sterilizasyon amacıyla çeşitli cihazlar ve yöntemler kullanılmaktadır.

Otoklavlar, avantajlarından dolayı yüksek sıcaklık ve basınca dayanıklı malzemelerin sterilizasyonunu sağlamak için daha çok tercih edilmektedir [2]. Kullanılan otoklavların, doğruluğundan emin olmak, kullanımları sırasında riskleri en aza indirmek, üretim ve hizmet kalitesini arttırmak amacıyla, periyodik olarak medikal kalibrasyon ölçümlerinin ve koruyucu bakım çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Medikal kalibrasyon; doğruluğu bilinen bir standart/ölçü sistemi kullanılarak diğer bir test/ölçü aleti veya sistemin doğruluğunun ölçülmesi, sapmaların belirlenmesi, mümkün ise ayarlanması veya raporlanmasıdır. Hastanelerde ve kliniklerde tıbbi malzemelerin sterilizasyonu için kullanılan otoklav üniteleri, kalite kontrol kapsamındaki çalışmalarla hem teknik özellikleri (sıcaklık, basınç ve nem) yönünden, hem de biyolojik etkisi (mikroorganizmaları öldürüp öldürmediği) yönünden kontrol edilmelidir. Bu kontroller aşamasında tüm sterilizasyon sürecinin, malzemelerin sterilizasyon için paketlenip hazırlanmasından, cihazdan çıkartılış noktasına kadar tüm işlem basamaklarının gözden geçirilmesi gerekmektedir. Ancak böyle bir sistemle az hatalı, çok verimli bir sterilizasyon işlemi gerçekleştirmek mümkün olabilecektir.

Sterilizasyon işlemlerinin öncesinde otoklav göstergelerinin çalışma durumlarının kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu göstergeler, sterilizasyon işlemi için gereken sıcaklık, süre veya basınç değerlerini ayarlamaya yarar. Ancak steril edilmesi gereken malzemeye, işlemin gerçek anlamda ne oranda ulaştığı hakkında bilgi vermezler. Bu amaçla da kimyasal ve biyolojik indikatörler kullanılmaktadır. Biyolojik indikatörler,

sterilizasyon işleminin amaçlanan biyolojik ölümü sağlayıp sağlayamadığını değerlendirmek açısından önemlidir [3].

Sterilizasyon işleminin başarısız olması demek, medikal malzemenin otoklav çıkışında da halen üzerinde mikroorganizma barındırıyor olması demektir. Bu da insan sağlığı ve uygulamalar açısından büyük risk teşkil etmektedir.

Bu çalışmada, steril edilmek üzere otoklav ünitesine yerleştirilen kanüler malzemeler içerisinde bulunan mikroorganizmaların, farklı sıcaklık ve sterilizasyon sürelerinde, ne oranda yok edildiği mikrobiyolojik incelemeler ile ortaya konmaya çalışılmıştır.

Otoklav ile sterilizasyonda gözenekli veya kanüler yapıya sahip malzemelerde, buharın her noktaya ulaşamayabileceği sebebiyle sterilizasyonunun diğer tip malzemelere göre daha zor olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı otoklavın performansını daha iyi değerlendirebilmek amacıyla kanüler yapıya sahip olan pipetlerin kullanılması tercih edilmiştir.

Bacillus sporları, hastalarda kullanılan aletler üzerinde bulunan mikrobiyal yüke göre daha dirençli olmaları nedeni ile biyolojik indikatörlerde kullanılmaktadır [3]. Çalışmada bu özelliklerinden dolayı biyolojik indikatör olarak *Bacillus subtilis var. niger* (ATTC 9372) suşu kullanılmıştır.

Otoklav sistemlerinin kalibrasyon ölçümlerinin yapılması amacıyla sıcaklık-basınç ölçüm cihazları kullanılmaktadır. Bu cihazlar programlanarak otoklava yerleştirilmekte ve otoklav çalışırken istenilen süre boyunca sıcaklık, basınç gibi önemli parametreleri kaydetmektedir. Böylelikle otoklavın ayarlanan değerlerde çalışıp çalışmadığı test edilebilmektedir. Çalışmanın teknik kısmını desteklemek amacıyla sıcaklık-basınç ölçüm cihazı kullanılmıştır.

Bu çalışma, hem teknik parametrelerin (sıcaklık, basınç, nem) kontrolü için veri kaydedicilerle (data logger) gerçekleştirilen ölçümleri, hem de biyolojik kontroller için biyolojik indikatörlü ölçümleri bünyesinde barındırmaktadır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. STERİLİZASYON

Sterilizasyon; sporlar dahil tüm yaşayan mikroorganizmaların öldürülmesi işlemidir [4]. Steril kelimesi; yaşayan her tür mikroorganizmadan arındırılmış anlamına gelmektedir. Bu da sterilizasyon işlemi ile sağlanmaktadır [5] .

Dezenfeksiyon ise bütün patojenik (hastalık yapan) mikroorganizmaların öldürülmesidir [6]. Bu işlemle hastalık yapan mikroorganizmalar inaktive olurlar veya ortamdan uzaklaştırılırlar. Fakat bakteriyel sporlar tamamen yok edilmezler [7].

Canlı mikroorganizmaların inaktivasyonunun sağlanması veya yok edilmesi bulaşıcı hastalıkların yayılmasının engellenmesi, besin maddeleri ve diğer materyallerin bozulmasının önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

2.2. STERİLİZASYONUN VE DEZENFEKSİYONUN TARİHSEL GELİŞİMİ

Dezenfeksiyon ile ilgili yazılı ilk bulgulara milattan önce 800 yıllarında yazılan bir eserde rastlanmaktadır. Buna göre kükürt yakılarak kükürt dioksit formunda ‘tütsü’ olarak havanın dezenfeksiyonu amacıyla kullanılmıştır [8].

Önceleri çok kullanılan gazlardan biri olan kükürt dioksit gaz halinde değil, sulu çözeltisi halinde bakteri öldürücü yeteneğe sahiptir. Sadece yeterli nem olduğunda etki gösterebilir. Bu nedenle kullanım güncelliği kalmamıştır [9].

Geçmişte ve günümüzde insanlar neden olduğunu bilmeden, yiyecekleri saklamak amacıyla ısıtma, kurutma, tütsüleme, tuzlama, şekerleme ve fermente etme gibi yöntemler kullanmış ve kullanmaktadırlar [8].

1676'da Anthony van Leeuwenhoek yonttuğu merceklerle en fazla 300 defa büyüten mikroskoplar yapmış ve çeşitli sıvıları mikroskopla incelemiştir. Böylece animalkül (-mikroskopla görülebilen- hayvancık) dediği mikroorganizmaları gören ilk kişi olmuştur. Ayrıca Leeuwenhoek, biber suyu ve sirke eklediğinde bu mikroorganizmaların öldüğünü (hareketlerinin kaybolduğunu) de kaydetmiştir. 1693'te Edmund King çeşitli maddelerin bu hayvancıkları hareketsiz kıldığını ve şeklini bozduğunu göstermiştir. Joseph Pringle 1700'lerde ilk defa "antiseptik" terimini kullanmış ve çeşitli deneylerle yiyeceklerin bozulmasına üreyen bir şeyin neden olduğunu ileri sürmüştür [10].

1832 yılında William Henry su sızdırmayan, çevresinde bir buhar kazanından gelen buharın dolaştığı bir düzeneği, kızıl ve tifüs hastaları tarafından kullanılmış giysileri dezenfekte etmek için kullanmıştır. Kapların ağızları vanalarla sıkıca kapatıldığında 100°C'nin üzerinde sıcaklık elde edebildiğini görmüştür. Ayrıca bu giysiler sağlıklı kişiler tarafından giyildiğinde tekrar hastalık oluşturmamıştır. Louis Pasteur da daha sonra vanalı basınç kazanlarını sterilizasyon amacıyla kullanmıştır [11].

Doğal ürünlerden veya kimyasallardan elde edilen antimikrobiyaller eski Mısır döneminden beri yaraları temizlemek ve hastalıkları iyileştirmek için kullanılmaktadır. 1861 yılında Ignaz Semmelweis doğum operasyonlarından önce ellerin klorlu kireç solüsyonu ile yıkanmasıyla lohusalık humması gibi enfeksiyonların % 9,9 oranında azaldığını gözlemlemiştir [8]. Joseph Lister, yaraların ve cerrahi aletlerin üzerine karboksilik asit püskürterek sterilizasyon sağlamıştır. Bu yöntemle cerrahi operasyon sonucu enfeksiyon sebebiyle ölüm oranı % 45'ten % 15'e düşmüştür [12].

Dezenfektanların etki mekanizmaları ve etkilerinin mukayesesi konusundaki çalışmalar da 19. ve 20. yüzyılda çoğalmıştır [10]. Robert Koch (1843-1910), mikroskopla görüntülemek ve fotoğraflayabilmek için değişik anilin konsantrasyonlarında ve farklı sıcaklıklarda yaptığı denemelerle bakteri tabakaları oluşturmuş ve bunların patojenik özelliklerini karşılaştırmaya çalışmıştır [13].

Lazarro Spallanzani, mikroorganizma içeren şişeleri farklı sürelerde ısıtarak farklı mikroorganizmaların ısıya duyarlılığının farklı olduğunu tespit etmiştir. Bazı

mikroorganizmalar düşük derecelerde ölürken bazıları ise kaynatıldığı halde canlı kalmıştır. Joseph Louis Gay-Lussac, hava geçirmeyen steril kaplarda çalışmalar yaparak fermentasyon için oksijenin gerekli olduğunu savunmuştur. Daha sonra Nicolas Appert, yiyecekleri temiz kaplara yerleştirerek kaynatmıştır. Bu teknik 1810'da konserve endüstrisinin başlangıcı olmuştur [14].

Isının tıpta sterilizasyon için kullanılması ilk olarak 19. yüzyılın son çeyreğinde Pasteur tarafından cerrahlara “ameliyattan önce aletlerinizi alevde tutunuz” şeklinde önerilmiştir. Ayrıca Pasteur, yaralarda kullanılan bandajların da ısı ile steril edilmesini tavsiye etmiştir [10].

Pasteur, cam malzemeleri Pasteur fırını kullanarak kuru sıcak ile yüksek sıcaklıklarda steril etmiştir. Fakat dayanıklı sporların varlığı Tyndall ve Ferdinand Cohn tarafından uygulanan parçalı sterilizasyon ile tespit edilmiştir. Tindalizasyon adı verilen bu yöntemde suyun kaynama sıcaklığının üzerine çıkılmamaktadır. Isı ile sterilizasyonun pratikte ilk uygulaması Robert Koch tarafından gerçekleştirilmiştir. Koch, Gaffky ve Loeffler buhar ile sterilizasyon üzerine yaptıkları çalışmalarda kapalı kazanlarda atmosferik basınç ve daha yüksek değerlerde basınç sağlayarak zaman-sıcaklık ilişkisini değerlendirmişlerdir. Koch ve arkadaşları bu çalışmalarıyla sterilizasyon için nemli ısının kuru ısıdan daha etkin olduğunu ve steril edilecek malzemeye uygulanan sıcaklık değerinin önemli olduğunu tespit etmişlerdir [15].

Eski zamanlardan beri su çeşitli yöntemlerle filtre edilmiştir. 1854'te Schroder ve von Dusch havayı ham pamuktan geçirerek steril etmişlerdir. Devaine 1863'te porselen filtre geliştirmiş, 1884'de sıvılar için seramik Pasteur-Chamberland filtresi geliştirilmiş ve 1891'de de Berkefeld kendi adını taşıyan filtre ile bakterilerin filtrasyonunu sağlamıştır [8].

Işınlardan sterilan etkisi ise 1892'de mavi dalga boyundaki ışınların bakterilere kırmızıdan daha etkili olduğunu tespiti ile başlamıştır. 1903'te 226-328 nm dalga boyundaki ultraviyole (UV) ışınlarının en yüksek bakterisit etki gösterdiği belirlenmiştir. Rontgen'in 1895'te X ışınlarını bulmasından sonra Rieder de bu ışınların sık rastlanan patojenlere karşı öldürücü etkisini tespit etmiştir. 1879'da Becquerel

uranyumun ışın salgıladığını, 1899'da ise Rutherford bu ışınların α , β ve γ olarak 3 tipe ayrıldığını göstermiş ve bu ışınların bakteri öldürücü etkisinden dolayı ısı ile steril edilemeyen maddelerin sterilizasyonunda faydalanılmıştır [10].

2.3. STERİLİZASYON YÖNTEMLERİ

Sterilizasyon işlemi dört temel şekilde uygulanmaktadır:

1. Isı ile sterilizasyon
2. Kimyasal maddeler ile sterilizasyon
3. Süzme/filtrasyon ile sterilizasyon
4. Işınlama ile sterilizasyon

2.3.1. Isı İle Sterilizasyon

Isı ile sterilizasyon, yüksek sıcaklık değerlerinde bozulmayan malzemelerin sterilizasyonu için en çok kullanılan sterilizasyon yöntemidir [16]. Yüksek ısıya maruz kalan hücrelerde protein denaturasyonu meydana gelmekte ve bu durum hücrenin ölümüne sebep olmaktadır [17]. Su, havaya göre ısıyı çok daha kolay iletmektedir. Bu nedenle mikroorganizmalara enerji transferi kuru ısı yerine nemli ısı uygulandığında daha etkin olmaktadır [18].

Isı ile sterilizasyonda etkili olan çeşitli faktörler vardır. Bunlar [19]:

- Isı derecesi: Isı arttıkça sterilizasyon etkisi artmaktadır.
- Isının etki süresi: Isı uygulanan süre arttıkça sterilizasyon etkisi artmaktadır.
- Isının uygulama şekli (Kuru ısı – Nemli ısı): Ortamdaki nem arttıkça ısının etkisi de artacağından sterilizasyon etkisi artmaktadır.
- Mikroorganizmaların özellikleri: Mikroorganizmanın vejetatif ya da spor formda olması, steril edilecek malzeme üzerinde organik yükün çok olması uygulanan ısıdan etkilenme oranını değiştirmektedir. Dolayısıyla sterilizasyonun etkisi de değişmektedir.
- pH derecesi: Ortamın pH derecesi nötralden uzaklaştıkça sterilizasyon etkisi de artar.

Isı ile sterilizasyon kuru ısı, yakma/alevden geçirme ve nemli ısı ile sterilizasyon olmak üzere üç farklı şekilde yapılabilmektedir.

1. Kuru ısı ile sterilizasyon: Tüp, balon, pipet, petri kutusu gibi bir çok cam malzeme, yağlı malzemeler, pudra gibi toz malzemeler, metaller ve yüksek ısıda bozulmayacak malzemeler kuru ısı ile steril edilmektedir. Fakat kumaşlar, lastik malzemeler ve besiyeri gibi sıvılar bu yöntem ile steril edilmez [20]. Kuru hava ile sterilizasyon sıcak hava fırınlarında (Pasteur fırını - sterilizatör) yapılmaktadır. Kuru ısıdan sıcaklığın etki etmesi nemli ısıya göre daha uzun sürer [21]. Kuru hava ile sterilizasyonda uzun süre ve yüksek ısı gerekmektedir [22]. Sıcak hava fırınları elektrikle çalışan çift çeperli fırınlardır. İçerisinde hava sirkülasyonunu sağlayan bir fan ve ayarlanan sıcaklığı sabit tutmaya yarayan bir termostat bulunur [19]. Buharlı sterilizasyonda 121°C'de 15 dakika yeterli olurken, kuru ısı ile sterilizasyonda 120°C'de 8 saat gerekmektedir. Bu sebeple sıcak hava fırınlarında sterilizasyon 160°-180°C'de 2 saat süre tutularak sağlanmaktadır [18].

Cam malzemeler önce deiyonize su ile yıkanmalıdır. Temiz malzemeler sterilizatörde 200°C'de 1-4 saat sterilize edilir. Steril edilecek malzemelerin sterilizatörden çıktıktan sonra da kullanıma kadar sterilliklerini korumaları açısından alüminyum folyolara sarılması gerekmektedir. Alüminyum folyo yerine ısıya dayanıklı paketleme kağıtları kullanmak da mümkündür [23]. Pipetlerin uçları su geçirmeyen pamuklarla kapatılmalı ve alüminyum ya da çelik kutulara yerleştirilmelidir [24].

2. Yakma/alevden geçirme ile sterilizasyon: Bunzen beki adı verilen alev kaynağından malzemelerin geçirilmesi ile sterilizasyon sağlanır. Bu yöntemle bakteri ekimlerinde kullanılan metal özeler alevde tutularak, cam tüplerin ağız kısımları ve mikroskop camları ise alevden geçirilerek steril edilir. Sadece alevin değdiği yüzeyde sterilizasyon sağlanmaktadır. Bu sebeple kullanım alanı laboratuvar ile sınırlıdır. Enfekte atıklar ise özel fırınlarda yakılarak yok edilir [25].

- 3. Nemli ısı ile sterilizasyon:** Nemli ısı, proteinlerin daha kısa sürede denatürasyonuna sebep olduğundan kuru ısıdan daha etkilidir [18]. Nemli ısı ile sterilizasyon buhar veya sıcak su kullanılarak yapılmaktadır.

Buhar kullanılarak yapılan sterilizasyon çeşitleri basınçlı ve basınçsız buhar ile olmak üzere iki şekilde uygulanır.

- I. Basınçlı buhar ile sterilizasyon: Bu yöntemde ilk olarak su, buhar basıncı atmosfer basıncıyla eşit olana kadar kaynar. Daha sonra kapalı kazandaki basınç artmaya başlar. Bunun sonucu olarak da ortamdaki sıcaklık artar ve kızgın buhar oluşur. Bu kızgın buhar yüksek enerji taşımaktadır. Buhar kendinden soğuk bir yüzeye karşılaştığında suya dönüşür ve taşıdığı enerjiyi bu yüzeye vererek sıcaklığını artırır. Böylelikle temas ettiği yüzeydeki mikroorganizmaların proteinlerini denatüre eder ve kısa sürede etki oluşturur. Basınçlı buhar ile sterilizasyonda otoklav adı verilen cihazlar kullanılmaktadır. Çeşitli laboratuvar malzemeleri, besiyerleri, giysiler bu yolla steril edilebilmektedir [19].

Ortamda nem bulunması halinde sterilizasyon daha kısa sürede tamamlandığı için, otoklav ile sterilizasyonda 121°C'de 15 dakika, 126°C'de 10 dakika ya da 134°C'de 3 dakika gerekmektedir [11].

- II. Basınçsız buhar ile sterilizasyon: Basınçsız buhar ile sterilizasyon üç yolla sağlanabilmektedir. Bunlardan ilki buharla doymuş bir ortamda 100°C ısıda akım halindeki basınçsız su buharı ile yapılan sterilizasyondur. Bu amaçla Koch kazanı adı verilen cihazlar kullanılır. Koch kazanlarında kapak kenarından devamlı buhar çıkışına izin verilmektedir. Bu işlemle tüm vejetatif organizmalar ölür fakat sporlar ölmez [24].

Basınçsız buhar ile sterilizasyonda ikinci yöntem akım halindeki buhar ile yapılan sterilizasyondur. Bu sisteme ultra high temperature (UHT) sterilizasyonu denir. Bu yöntem özellikle sanayide süt gibi sıvı besin maddelerinin steril edilmesinde kullanılır. 141°C'ye kadar ısıtılmış levhalara

püskürtülen süt bu ısıda 1,8 saniye kadar tutulduktan sonra vakum bulunan soğutma kazanlarına püskürtülerek hızla 22°C'ye kadar soğutulur. Isı mümkün olduğunca hızlı bir şekilde artıp azalmalıdır. Böylece şok etkisi sağlayarak en dirençli spor formları bile öldürülmektedir. Isıya çok dirençli *Bacillus stearothermophilus* gibi bazı bakteri sporları için daha yüksek sıcaklık gerekmektedir. Ancak bu sporlar da oda ısısında çoğalma yeteneğini kaybettiği için sterilizasyon tam olarak sağlanmış kabul edilir [26].

Üçüncü yol ise Tindalizasyondur. Bu metot John Tyndell tarafından geliştirilmiştir. 100°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda bozulabilen sıvı maddelerin (şekerli, jelatinli besi yerleri gibi), bazı çözeltilerin sterilizasyonu ve yiyeceklerdeki mikroorganizmaların kontrolü için kullanılan bir yöntemdir [27].

Steril edilecek malzemeler 100°C'de serbest buhar altında, her gün yarım saat olmak üzere üç gün tutularak steril edilmektedirler. Arada geçen zamanlarda materyal oda sıcaklığında bekletilmektedir. Böylece ilk ısıtmada vejetatif (hastalık yapıcı ve dış çevre koşullarına dirençsiz) bakteriler ölür. Oda ısısında bekleme sırasında 1. gün işlemden etkilenmeyen sporlar vejetatif forma dönüşürler. Materyal 2. gün yine 100°C'de yarım saat tutulur ve vejetatif forma dönüşen bu bakteriler de ölür. Aynı işlemler tam sterilizasyon sağlayabilmek için bir gün daha tekrarlanır ve Tindalizasyon işlemi, her gün üst üste uygulanarak 3 gün içinde tamamlanır [26].

2.3.2. Kimyasal Maddeler İle Sterilizasyon

Kimyasal maddeler kullanılarak uygulanan sterilizasyonda etilen oksit (EtOH) gazı en yaygın kullanılanıdır. Etilen oksit (C₂H₄O₂) ile sterilizasyonun etkinliği de işlem süresine, ortam nemine ve sıcaklığa bağlıdır. Etilen oksit oldukça reaktiftir ve canlı dokulara zarar vermektedir. Etilen oksit 10.8°C'nin altında sıvı, üzerinde ise gaz halde bulunmaktadır. Saf halde oldukça zehirli, tahriş edici ve hava ile temasında patlayıcıdır. Bu yüzden azot, karbondioksit, hidrokloroflorokarbon gibi gazlar ile seyreltilmiş halde kullanılır. Etilen oksit gazının kullanımında ulusal ve uluslararası standartları yerine getirmek gereklidir [28, 29].

Etilen oksit proteinlerle yeni karbon bağları oluşturarak mikroorganizmaya etki eder [30]. Etilen oksit ile sterilizasyon için özel basınç, sıcaklık ve nem ayarları yapılan etilen oksit otoklavları kullanılmaktadır. Bir litre alet hacmi için 500 mg etilen oksit ile 40-60°C'de, % 45-75 relatif nem altında 4 saat süre ile iyi bir sterilizasyon sağlanmaktadır. İşlemden sonra etilen oksit uçurulur ve ortamdan bol steril temiz hava geçirilerek gazın zararlı etkisi uzaklaştırılır [31].

Bu kimyasal madde diğer sterilizasyon yöntemlerinde bozulabilecek pek çok tek kullanımlık medikal malzemenin sterilizasyonu için kullanılmaktadır. Etilen oksit paketlenmiş malzemelerin iç kısımlarına geçebilir. Böylece paketlenmiş halde etilen oksit sterilizasyonuna tabi tutulan şırınga, ameliyat ipliği gibi tek kullanımlık malzemeler, ameliyat malzemeleri sterilizasyon işleminden sonra kullanılıncaya kadar sterilliklerini korurlar [32].

Etkin bir etilen oksit sterilizasyonunda su-etilen oksit gaz konsantrasyonu oranı önemlidir. Etilen oksit, hücrenin nükleik asit, protein ve enzimleri ile kimyasal reaksiyona girerek etki göstermektedir [31].

Formaldehit ve okside edici ajanlar da sterilizasyon için kullanılan kimyasallardandır. Ancak etilen oksit dışındaki kimyasallar genellikle dezenfeksiyon amacıyla kullanılmakta, sterilizasyon için tercih edilmemektedir.

2.3.3. Süzme/Filtrasyon İle Sterilizasyon

Yüksek ısı uygulandığında fiziksel ve kimyasal yapılarında değişmeler olabilecek ısıya duyarlı sıvı malzemelerin ve havanın sterilizasyonu için filtrasyon yöntemi kullanılmaktadır. Toksin, enzim, ilaç, serum ve şeker içeren sıvıların sterilizasyonu için oldukça kullanışlı bir yöntemdir. Örneęin şeker içeren bir besiyeri, otoklav ile steril edilmesi sonucu şeker karamelize olur ve kullanışsız hale gelir. Filtreler belli gözenek çaplarına sahip, sıvıyı geçiren fakat mikroorganizmaların geçmesini engelleyen malzemelerdir. Filtrasyon sonucu mikroorganizmalar ölmez, sadece ortamdan uzaklaştırılırlar [24].

Süzme işlemi ile mikroorganizmalar iki şekilde ortamdan uzaklaştırılır:

1. Mekanik olarak süzme: Gözenekleri mikroorganizmalardan küçük filtreler kullanılarak mikroorganizmaların filtrenin üzerinde kalması sağlanmaktadır. Böylece süzüntü steril hale gelir [18]. Genellikle 0,22 µm gözenek çapına sahip filtreler kullanılmaktadır. Bazen de iki ya da üç tane farklı gözenek çapına sahip filtre üst üste yerleştirilerek de kullanılabilir. Böyle durumlarda filtreler gözenek çapı en üstte en büyük olacak şekilde yerleştirilir [23].
2. Adsorbsiyon yoluyla süzme: Mikroorganizma ve filtre yüzeyi arasındaki elektriksel etkileşim sonucu süzme işlemi sırasında mikroorganizmalar filtrelerin gözenekli yüzeyine adsorbe olur ve süzüntüye geçmezler [33].

Az miktarda sıvıların süzülmesi için enjektörlere takılan membran filtreler kullanılır. Steril edilmek istenen sıvı enjektöre çekildikten sonra, enjektör ucuna membran filtre adapte edilir ve enjektörün pistonu ile itilerek sıvıya basınç uygulanır. Daha fazla miktardaki sıvıların süzülmesi için ise vakum pompaları yoluyla süzüntünün toplanacağı tarafa negatif basınç uygulanır [21].

2.3.4. Işınlama İle Sterilizasyon

Işınlama (Radyasyon) ile sterilizasyon diğer yöntemlere göre daha sınırlı bir kullanım alanına sahiptir. Radyasyon; X ışınları ve infrared (IR), ultraviyole (UV) dalgaları gibi ışın veya dalga olarak transfer edilen bir enerjidir [34].

X ışınları ve gama ışınları hücrelerin DNA'sına zarar vererek etki ederler. DNA'da hücrenin ölümüne sebep olacak mutasyonlar meydana getirirler. Çok yüksek penetrasyon özelliğine sahiptirler. X ışınları, gama ışınlarına göre az enerji ile steril edilecek malzemede hafif bir sıcaklık meydana getirirler [34].

Infrared ışınla ile steril edilecek nesnenin sıcaklığı mikrodalga fırınlardaki gibi hızlı bir şekilde yükseltilmekte ve böylece sterilizasyon sağlanmaktadır [18]. IR ışınları ~0,7-1000 µm dalga boyu aralığındadır. 0,7-0,25 µm dalga boyu arasındaki IR yakın IR, 0,25-50 µm dalga boyu arasındaki IR orta IR, 50-1000 µm arasındaki IR ise uzak IR

olarak adlandırılmaktadır. IR ışınları genellikle ısıtma veya yüzey dezenfeksiyonu amaçlı kullanılmaktadır [34].

Güneşten gelen UV ışınları, su yüzeyinde ve havada serbest dolaşan mikroorganizmaları öldürmektedir. Genellikle 240-280 nm dalga boyu arasındaki UV ışınları sterilizasyon amacıyla kullanılmaktadır. UV ışınları kısa dalga boylu oldukları için çok az etki etme özelliği gösterirler. Bu yüzden UV ışınları hava ve yüzeylerdeki mikroorganizma popülasyonlarının sayısını azaltmada kullanılır. UV ışını için en kullanışlı kaynak 254 nm dalga boyunda ışın sağlayan lambalardır. Bu kaynaklar havanın ve kapalı alanlardaki yüzeylerin dezenfeksiyonunda kullanılır. Gözlere zararlı olduğu için kullanıcı tarafından gerekli önlemler alınarak uygulanmalıdır [35].

2.4. DEZENFEKSİYON

Dezenfeksiyon cansız yüzeylerdeki hastalık yapma özelliğine sahip mikroorganizmaların öldürülmesi veya büyümesinin durdurulması işlemidir. Dezenfeksiyon işlemi sterilizasyon derecesine yakın olabilmektedir. Ancak tüm spor formlar her zaman öldürülmeyebilir. Buna göre dezenfeksiyon üç gruba ayrılır: İlkine yüksek düzeyde dezenfeksiyon işlemi, ikincisine düşük düzeyde dezenfeksiyon işlemi, bunların arasında kalacak etkinlikte yapılan işleme ise orta düzeyde dezenfeksiyon işlemi denmektedir. Yüksek düzeyli dezenfeksiyon işlemi ile bütün bakteri, virüs ve mantarlar öldürülür. İşlem süresi yeterince uzun tutulursa spor formlar da ölebilmektedir. Orta düzeyli dezenfeksiyon birçok bakteri, virüs ve mantarı öldürür, fakat sporlara etki etmez. Düşük düzeyli dezenfeksiyonda ise çoğu vejetatif bakteri, mantar ve dayanıksız virüsler öldürülür [36].

Mikroorganizmaları yok etmek veya büyümelerini durdurmak için kullanılan kimyasal maddelere dezenfektan denmektedir. Dezenfektanlar da yüksek, orta ve düşük düzey dezenfektanlar olarak sınıflandırılmaktadır. Yüksek düzey dezenfektanlar, uygun kullanıldığında çoğu bakteriyel sporlar hariç mikrobiyal patojenlerin tümünü öldürebilen maddelerdir. Orta düzey dezenfektanlar, uygun kullanıldığında bazı virüs ve mantarlar dışında *Mycobacterium tuberculosis* dahil tüm mikrobiyal patojenleri öldüren maddelerdir. Sporlar ise tamamen yok edilmeyebilmektedir. Düşük düzey

dezenfektanlar ise uygun kullanıldığında çoğu vejetatif bakterileri, mantarları ve virüslerin büyük bölümünü öldüren maddelerdir. Ancak spor formlar ve bazı dirençli mikroorganizmalara etki etmemektedir. Bazı yüksek düzey dezenfektanlar sporlar dahil tüm mikroorganizmaları öldürebildikleri için sterilizasyon etkisi gösterirler. Bunlar sıvı kimyasal sterilanlar olarak adlandırılmaktadırlar [35, 36].

İyi bir dezenfektan aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır [37]:

- Ucuz, güvenli ve etkili olmalıdır.
- Kullanıcıya zarar vermeden bütün patojen mikroorganizmaları öldürmelidir.
- Toksik olmamalıdır.
- Kolayca çözülebilmelidir.
- Yüksek oranda penetre olabilmelidir.
- Stabil olmalıdır.
- Hızlı etki etmelidir.

Dezenfektan maddelerin etkinliğini çeşitli faktörlere bağlıdır:

1. Dezenfektan maddelerin konsantrasyonu: Dezenfektanların konsantrasyonu arttıkça, etkiledikleri mikroorganizma sayısı ve mikroorganizmalar üzerindeki zarar verici etkileri artmaktadır ve dezenfeksiyon süresi kısalmaktadır [35].
2. pH: Ortamın pH değişiklikleri hem mikroorganizmaları hem de dezenfektanları etkilemektedir. Fenoller ve organik asitler düşük pH değerlerinde daha etkili olurken, GLA yüksek pH değerlerinde daha etkilidir. pH derecesi nötralden ne kadar uzaklaşırsa mikroorganizmaların dezenfektanlara olan dirençleri de o kadar azalır ve dezenfektanın etkisi artar [38].
3. Isı: Isı arttıkça dezenfektan maddenin etkisi de artar. Bazı dezenfektanlar etkili olabilmek için yüksek ısıya ihtiyaç duyarlar. Düşük ısılarda etki gösteren dezenfektanların ise etkinliği ısı ile daha da artar [38].

4. Etki süresi: Her dezenfektan maddenin kendine özel bir etki süresi vardır. Mikroorganizmaların tamamen inaktive olabilmesi için dezenfekte edilen malzeme kullanılan dezenfektanın gerektirdiği süre boyunca dezenfektana maruz bırakılmalıdır [39].
5. Organik maddelerin varlığı: Dezenfekte edilecek yüzeyin taşıdığı organik yük (kan, irin, mukus gibi) dezenfeksiyon işlemini olumsuz etkilemektedir. Böyle durumlarda yüksek konsantrasyonlarda dezenfektanlar ve/veya daha uzun etki süresi uygulanmaktadır [39].
6. Osmotik basınç: Ortamın osmotik basıncının yüksek olması, mikroorganizma hücresinden su çıkışına sebep olmaktadır. Bu durumda mikrobiyal hücrenin ısı ve kimyasal etkilere karşı direnci artmaktadır [40].
7. Mikroorganizmalara bağlı faktörler: Dezenfektanların etkileri sporlara göre vejetatif hücrelerde daha fazladır [5].

2.4.1. Dezenfektan Maddeler ve Etki Mekanizmaları

Dezenfektanların seçimi ve kullanımı için önce mikrobisit aktivitelerinin bilinmesi gerekmektedir [41].

Dezenfektanlar mikroorganizmaların yarı geçirgen sitoplazmik zarında yapısal ve işlevsel bozukluklar yapmaktadırlar. Bunun sonucunda hücre proteinleri ve özellikle yaşamsal enzimler inaktive olmaktadır. Dezenfektanlar hücrenin biyosentez ve üremesini durdurarak etki gösterirler [9]. Mikroorganizmalar ise cins ve yapılarına göre dezenfektanlara farklı derecede direnç gösterirler [42].

Dezenfeksiyon amacıyla kullanılan kimyasal maddeler, dört farklı şekilde hücreye etki etmektedirler [43]:

1. Hücre zarına etki eden dezenfektanlar: Bu dezenfektanlar hücre duvarına zarar vermekte ve hücre zarının seçici geçirgen yapısını bozmaktadırlar [43].

- Yüzey aktif dezenfektanlar: Yüzey aktif dezenfektanlar çok kullanılan ancak zayıf etkili dezenfektanlardır. Yüzey ve mikroorganizma arasında enerji ilişkisini (yüzey gerilimi) değiştirerek etki göstermektedirler. Bu maddeler iyonlaşma özelliklerine göre katyonik, anyonik ve noniyonik olmak üzere üçe ayrılırlar [43].

Katyonik yüzey aktif ajanlar anyonik olanlara göre daha geniş spektrumlu (daha fazla mikroorganizma türüne etkili) ve daha güçlü antimikrobiyal etkiye sahiptirler. Kararlıdırlar, toksik değildir ve tahriş edici özellikleri azdır. Ancak organik materyal ve sabunlar katyonik yüzey aktif maddelerin etkilerini azaltmaktadır [43].

- Fenol ve fenol bileşikleri: Hücre zarını parçalayarak hücre yapısının dışarı çıkmasına neden olurlar. Fenollerin bir diğer etkisi de hücre proteinlerini denatüre etmektir. Fenolü medikal alanda ilk kullanan kişi Lister'dir [44]. Fenoller dışkı, kan, irin ve mukus için oldukça etkili dezenfektanlardır. Başka dezenfektanlarla karıştırıldığında etkinlikleri azalmaktadır. Deri ve mukozaya zarar verdiği için bu dokuların dezenfeksiyonunda kullanılmamalıdır [43].
- Organik çözücüler: Etil alkol ve isopropil alkol organik çözücülere örnek gösterilebilir. Bunlar eski zamanlardan beri yüzey antiseptiği olarak deri üzerinde kullanılmaktadır. Etil alkol % 70 konsantrasyon oranında deri dezenfektanı olarak oldukça sık kullanılmaktadır. Bakteriyel sporlar, mantarlar ve virüsler üzerine etkisi düşüktür. İsoopropil alkol etil alkolden iki kat daha etkilidir. Deri dezenfeksiyonu için % 60-70 konsantrasyon oranında kullanılmaktadır. Alkollerin sporları, virüsleri ve mantarları öldürme kapasitesi yok denecek kadar düşüktür. Bu nedenle cerrahi aletlerin sterilizasyonu için kullanılmamalıdır [45]. Sık kullanımları veya gereğinden yüksek konsantrasyonda kullanımları cilt ve mukoza tahrişlerine, yorgunluğa veya baş ağrısı gibi etkilere sebep olmaktadır [46].

2. Hücre proteinlerini denatüre ederek etki eden dezenfektanlar: Bu tip dezenfektanlar proteinlerin ve protein tuzlarının yapısını değiştirmekte veya

proteinlerin koagule olmasına neden olmaktadır. Böylece gerekli fonksiyonlarını yerine getiremeyen hücre ölür [43]. Asitler, alkaliler, aldehitler, alkoller, aseton ve diğer organik çözücü maddeler hücre proteinlerine etki ederek dezenfeksiyon sağlamaktadırlar. Formaldehit en önemli aldehitlerdendir. Gaz sterilizasyonunda da kullanılmasına rağmen asıl kullanım yeri dezenfeksiyon işlemleridir. Formaldehit bakteri, mantar ve virüsler üzerinde oldukça etkilidir. Yüksek konsantrasyonda kullanıldığında sporları da yok etmektedir [44].

3. Mikroorganizma enzimlerinin işlevlerini bozarak etki gösteren dezenfektanlar: Bu dezenfektanlar enzimlere bağlanarak yapı ve fonksiyonunu bozarlar [36].
 - Ağır metaller: Cıva, gümüş, bakır tuzları ağır metallerin başlıcalarıdır. Bunların etkileri proteinlerin sülfidril grupları ile birleşerek enzim inaktive etmesiyle ortaya çıkmaktadır [47]. Yüzey dezenfektanı olarak kullanılan diğer ağır metaller ise gümüş nitrat, bakır sülfat ve potasyum permanganattır [19].
 - Okside edici maddeler: Hidrojen peroksit, potasyum permanganat, ozon ve parasetik asit oksitleyici etkileriyle enzim aktivitesini bozarlar. Çoğu mukoza, deri ve yara için antiseptik olarak kullanılmaktadır [44].
 - Alkalen maddeler: Bu grup dezenfektanlar formalin, etilen oksit ve betapropiyolaktondur. Formalin kadavra ve dokuların saklanması için kullanılmaktadır [8].
4. Nükleik asit üzerine etki eden dezenfektanlar: Nükleik asitler (DNA ve RNA) hücre içinde genetik materyali taşımaktadırlar. Bazı dezenfektanlar DNA replikasyonunu ve hücrenin normal fonksiyonunu engelleyerek etki göstermektedirler. Sonuç olarak hücre canlılığını kaybetmektedir [40]. Kristal viyole, fuksin, metilen mavisi ve akridin gibi boyalar nükleik asitlerle bileşikler yaparak DNA yapısını bozmaktadırlar. Böylece transkripsiyon ve replikasyonu engelleyerek dezenfektan etki göstermektedirler [11].

Tüm bunların yanında kullanılan gaz dezenfektanlar da vardır. Dezenfeksiyon sonrası gazın ortamdan tamamen uzaklaştırılabilmesi ve uygulamanın normal veya yükseltilmiş ısıda yapılabilmesi gaz ile dezenfeksiyonun avantajlarından biridir. Gaz dezenfektanlar; ozon, formaldehit, etilen oksit, -propiyolakton ve klordur. Ozon özellikle suların dezenfeksiyonunda, depolanan besinlerin muhafaza edilmesinde kullanılır. Formaldehit kumaş, tahta, deri, lastik, maden ve boyaları bozmadığı için bu tip eşyaların dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır. Etki etmesi için % 60-80 nem ve 18°C sıcaklık gerekmektedir. Uçucu bir sıvı olan kloroform da serum ve diğer bazı sıvılara koruyucu olarak % 0,25 oranında katılarak kullanılmaktadır [9].

2.4.2. Dezenfektanların Kullanımı

Hastanelerde ve laboratuvarlarda temizlik, dezenfeksiyon ve sterilizasyon yöntemlerinin doğru ve yeterli uygulanması enfeksiyonları önemli ölçüde azaltmaktadır [48]. Antiseptik deterjanlar kullanılarak ellerin yıkanması ile ellerdeki mikroorganizmalar öldürülmekte ya da uzaklaştırılmaktadır [49]. Grip, hepatit A, dizanteri gibi hastalığı olan bir bireyde eller mikroorganizmaların taşınmasında önemli bir vektördür [50].

Dezenfektanlar hastanelerde yer, duvar, tezgah gibi yüzeylerdeki ve bazen de yatak örtülerindeki bakteri, mantar ve virüsleri öldürmek için kullanılmaktadır [51].

2.4.3. Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Seçimi

Dezenfeksiyon işleminden önce dezenfekte edilecek yüzey için uygun dezenfektan ve gerekli uygulama süresi belirlenmelidir.

Dezenfekte edilecek malzemeler üç gruba ayrılmaktadır [36]:

- Kritik olan malzemeler steril edilmelidir. Çünkü bu malzemeler steril dokular, vücut boşlukları ve vücut sıvıları ile temas etmektedirler. Bundan dolayı enfeksiyon riskleri büyüktür. Cerrahi aletler, endoskopi aletleri, iğneler, enjektörler bu gruba girmektedir.
- Yarı kritik malzemeler mukoza zarları ile temas eden ancak deri içerisine girmeyen malzemelerdir. Bu malzemelere sterilizasyon veya yüksek düzeyde

dezenfeksiyon işlemi uygulanmalıdır. Anestezi ekipmanları, kolonoskopi ve gastroskopi ekipmanları bu gruba girmektedirler.

- Kritik olmayan malzemeler sadece sağlam deri ile temas eden malzemelerdir. Yüz maskeleri, hastanın kullandığı çarşaf, kan basıncı ölçümü için kullanılan kolluklar bu grupta yer almaktadır [36]. Bu malzemelere deri ile temas ettirilmeden önce orta ya da düşük düzeyde dezenfeksiyona uygulanmalıdır [52].

2.5. OTOKLAV ÜNİTELERİ

2.5.1. Otoklavların Yapısı ve Çalışma Prensibi

Otoklavlar sterilizasyon için basınçlı su buharı kullanan, belirli ısı ve basınç değerlerine ayarlanabilen, basınca dayanıklı kazanlardır [53].

Çok çeşitli boyutlarda ve yapılarda olabilmektedirler. Çok küçük ve basit olanlar olduğu gibi büyük ve karmaşık, tek çeperli çift çeperli, tek kapılı çift kapılı, buhar jeneratörlü ve ön vakumlu olanları vardır [54]. Büyük otoklavlar buharı ayrı bir buhar jeneratöründen veya merkezi bir boru sisteminden sağlarken küçük otoklavlar kendi buharını suyu ısıtarak sağlamaktadır [53].

Her otoklavda bulunan bölümler şunlardır [54]:

1. Kazan: Kazan, steril edilecek malzemenin yerleştirildiği alandır. Küçük otoklavlarda tek çeperli, büyük otoklavlarda ise iç içe oturtulmuş iki çeperden oluşmaktadır. Tek çeperli otoklavlarda ayrı bir su bölmesi yoktur. Buharı sağlayacak su kazanın dibine konur ve otoklava giren malzemenin ıslanmaması için arada su ile teması önleyen, yüksekliği ayarlanabilen bir ızgara bulunmaktadır. Çift çeperli büyük otoklavlarda su dış kazanın dibine konur. İç kazan steril edilecek malzemenin yerleştirilmesi için kullanılır. İki çeper arasında buharın geçişini sağlayacak bir düzenek bulunmaktadır.
2. Kapak: Otoklav kapakları burgulu vida veya manivela ile sıkıca kapanabilen özellikte olmalıdır. Ayrıca kapağın sıkıca kapanabilmesi ve buhar kaçırmaması

için sağlam bir lastik conta bulunmaktadır. Otoklavlarda kapak tek veya çift olabildiği gibi, üstten veya yandan da açılabilir pozisyonda olabilmektedir.

3. Termostat: Isının belli düzeyde kalmasını sağlar.
4. Hava boşaltma musluğu: Otoklav çalışmaya başladığında içindeki havanın boşaltılabilmesi için kullanılan musluktur. Kimi otoklav tiplerinde vakumla hava boşaltılırken, kimisinde de hava boşaltma musluğu buhar çıkmaya başladığında kapatılarak havanın boşaltılması sağlanmaktadır.
5. Basınç ayar subabı: Belirli bir basınç değerine ulaştıktan sonra buharın çıkmasına izin vererek basıncın sabit kalmasını sağlamaktadır.
6. Manometre ve termometre: Basıncı ölçen manometre ve sıcaklığı ölçen termometre otoklavın çalıştığı sürece ulaştığı değerleri göstermektedir.

Otoklavların çalışma prensipleri basitçe bir düdüklü tencereye benzetilebilir. Otoklavda ısı kaynağı elektriktir. Otoklav çalıştırılmadan önce yeterli miktarda su bulunup bulunmadığı kontrol edilmelidir. Kazan taşı oluşmaması için saf su ya da deiyonize su kullanılmalıdır. Steril edilecek malzemeler aralıklarla ızgaranın üzerine yerleştirildikten sonra kapak kapatılmalıdır. Bu işlemden sonra otoklav çalıştırılır. Otoklav çalıştırıldığında hava boşaltma musluğu açık tutulur. Otoklavın içindeki ısı miktarı yükseldikçe su ısınmaya ve kaynayıp buhar hale gelmeye başlar. Dolayısı ile hava boşaltma musluğundan önce hava, sonra hava ile buhar karışımı, daha sonra da sadece buhar çıkar. Buhar çıkmaya başlaması otoklavın içindeki havanın tamamen boşaldığını gösterir. Bu aşamada musluk kapatılır ve basınç ayar subabı istenilen değere ayarlanarak otoklavın buhar tutması sağlanır. Ön vakumlu otoklavlarda otoklavın içindeki hava ön vakumla boşaltıldıktan sonra ortama doymuş buhar verilmektedir. Musluk kapatıldıktan sonra sıcaklık ve basınç artmaya başlar. Sterilizasyon süresi istenilen sıcaklık ve basınç değerlerine ulaştıktan sonra başlar [54].

Etkin bir sterilizasyon için su buharı ayarlanan basınç ve sıcaklıkta mümkün olduğunca doymuş buhar halinde olmalıdır. Otoklavın içinde hava kalması basınç-sıcaklık

ilişkinini bozar ve hava-buhar karıştığı için aynı basınçta daha düşük sıcaklıkta buhar oluşur. Bu sebeple musluk kapatılmadan önce bütün hava otoklav kazanından tasfiye edilmelidir [55].

Buharlı sterilizasyon uygulama süreleri otoklava konulan malzemenin niteliğine veya kirliliğine göre değiştirilebilmektedir. Otoklavlarda kullanılan sıcaklık ve süreler [55]:

- 134 °C'de 4 dakika,
- 121 °C'de 15-20 dakika,
- 115 °C'de 35 dakikadır.

Basınç tamamen düşmeden otoklavın açılması tehlikelidir. Kapağın aniden açılması durumunda basınç birden düşeceği için yüksek basınç ve sıcaklık altında durgun haldeki sıvılar kaynayarak taşarlar ve sterillikleri bozular.

Bilinen en güvenli ve etkin yöntem otoklav ile sterilizasyondur. Ekonomiktir ve toksik değildir. Sporlar ve virüsler dahil hastalık yapan ve yapmayan bütün mikroorganizmalar otoklav ile sterilizasyonda ölmektedir. Metal malzemeler, cam malzemeler, steril edilmesi gereken ısıdan etkilenmeyen sıvı malzemeler, çeşitli kumaşlar otoklav ile steril edilebilmektedir [56]. Otoklavlarda basınç ve sıcaklığın takip edilebildiği kontrol panelleri bulunmaktadır. Grafikleme ya da bilgisayarlı kayıt yapılabilen kontrol panellerine sahip otoklavlar da mevcuttur [57].

Otoklavla sterilizasyonda süre, sıcaklık seviyesi, basınç ve nem olmak üzere dört etkin parametre vardır. Mikroorganizmaları öldürebilmek için sıcaklık yeterli seviyeye ulaşmalı ve belli bir süre bu seviyede sabit tutulmalıdır. Sıcaklık ne kadar yüksek olursa süre o kadar kısalmır. Basınç, sıcaklığı suyun kaynama noktasından daha yüksek derecelere çıkarıp doymuş buhar elde edebilmek için gereklidir [58].

2.5.2. Sterilizasyonda Ön Temizlik ve Paketleme

Tıbbi malzeme üzerindeki kaba kirlerin özellikle organik atıkların deterjan gibi bir ajanın kullanılmasıyla uzaklaştırılması ve dekontaminasyona hazır hale getirilmesi

işlemine ön temizlik denmektedir [59]. Dekontaminasyon ise cisim ya da yüzeylerin fiziksel veya kimyasal ajanlarla kontaminasyon etkenlerinden arındırılmasıdır [36].

Steril edilecek malzemeler otoklava yerleştirilmeden önce ilk olarak yıkanmalıdır. Gerekiyorsa yağlı malzemeler alkol ya da eter ile yıkanmalıdır. Görünür kirlere arındırmak sterilizasyonun etkinliğini arttıracaktır [56].

Yıkama işlemi otomatik yıkama, dezenfeksiyon makineleri, ultrasonik temizleyiciler veya elle yapılabilir. Otomatik makineler ısıya dayanıklı aletlerin temizliğinde kullanılır. Çalışma sistemi çok sayıda yıkama ve durulama süreçlerini içerir. Bu makinelerde klor katkılı bileşikler kullanılarak daha düşük sıcaklıklarda temizleme ve dezenfekte etme sağlanabilmektedir. Çelik veya dayanıklı plastik malzemelerin temizlenmesinde klorlu kostik deterjanlar kullanılabilir. Alüminyum, plastik veya kauçuk aksamı olan aletler için hafif alkali ve kostik olmayan deterjanlar seçilmelidir. Ultrasonik makineler, yüksek frekanslı ses dalgaları yoluyla malzeme üzerindeki kirlere mekanik yolla uzaklaştırılmasını sağlamaktadırlar [59].

Yıkama işlemlerinde makine kullanmak elle yıkamaya göre daha etkin ve güvenli bir yöntemdir. Çeşitli markalarda ultrasonik temizleyiciler mevcuttur [8]. Ultrasonik temizleyicilerde sadece deterjan yerine sıradan dekontaminantları veya temizleme solüsyonlarını kullanmak olabilecek kontaminasyonları engellemede oldukça önemlidir. Fakat bazı bakterilerin ultrasonik temizlik sırasında temizleyiciden çevre havaya karıştığı rapor edilmiştir. Bu yayılma ultrasonik cihazda kullanılan temizleme ajanının değiştirilmesi gibi önlemlerle sıfıra indirilebilmektedir [60].

Malzemelerin çoğunu yıkamak için yıkama makineleri kullanılmaktadır. Yıkama işlemini kurutma işlemi takip etmektedir. Yıkama makinelerinde kurutma fonksiyonu bulunması önemli bir avantajdır. Bütün malzemeler en son saf su veya deiyonize su ile durulandıktan sonra korozyon ve kontaminasyonların engellenmesi için kurutulmalıdır [61].

Sterilizasyon işleminden önce steril edilecek malzemelerin paketlenmesi bu malzemelerin sterilizasyondan sonra kullanılıncaya kadar kontamine olmasına engel

olmaktadır. Bu nedenle sterilizasyon işleminden önce malzemelerin uygun bir şekilde paketlenmesi gereklidir. Paketler sterilizatörün boyutlarına uygun büyüklükte hazırlanmalıdır [8]. Paketleme materyali, sterilan gazın paket içine giriş ve çıkışına, havanın ve su buharının paketten uzaklaşmasına izin verecek nitelikte olmalıdır [59].

Dokuma kumaş, kağıt, selüloz, plastik, dokuma olmayan sentetikler ve sterilizasyon kapları paketlenme amacıyla kullanılan malzemelerdir. Paketleme için kullanılan dokuma kumaşlar genellikle % 100 pamuk, pamuk-polyester karışımı, sentetik kumaşlar olabilmektedir. Bu kumaşlar tek katlı veya çift katlı kullanılabilir. Dokuma malzemelerin gözenekleri geniştir [62]. Tek katlı paketler kullanıldığında paketlerin saklama sırasında kontamine olma ihtimali vardır. Bu da kullanım sırasında malzemenin steril olmadığı anlamına gelmektedir. Bu nedenle çift katlı paketlenme kullanımı kontaminasyon riskini azaltacağı için tercih edilmelidir [63]. Tekrar tekrar kullanılabilirler, fakat her kullanımda temizlenmeli, üzerinde delik/yırtık olup olmadığı kontrol edilmeli ve kullanılmadıkları zaman katlı olarak saklanmalıdır. Dokuma olmayan paketlenme malzemeleri plastik polimerler, selüloz iplikler ve özel üretilmiş kağıtlardan hazırlanmaktadır. Dokuma olmayan malzemelerin üzerindeki gözenekler oldukça küçüktür ve mikroorganizmaların dış ortama yayılmasını engellemektedir. Bu nedenle diğer paketlenme materyallerinden daha güvenlidirler. Paketlenmesi gerekmeyen malzemeler ise uygun sepet, kap veya konteynirlara yerleştirilmelidir [62].

Paket açılmadan önce içinde ne olduğunun bilinmesi gereklidir. Bu nedenle paketlerin üzerine içinde ne bulunduğu doğru ve tam olarak belirtilmiş etiketler yerleştirilmelidir. Ayrıca hazır etiketlerin kullanımı sterilizasyon güvencesi, stok kontrolü ve steril paketlerin ilgili bölüme iletilmesi için gereklidir. Paketler her zaman sterilizasyon işlemine girmeden önce etiketlenmelidir. Etiketleme işlemi pakete kesinlikle zarar vermemelidir. Paketlerin üzerine gerekli bilgilerin kaydedilmesi için keçe veya çabuk kuruyan alkol bazlı toksik olmayan etiket yöntemleri kullanılmalıdır. Bilgiler kesinlikle paket üzerine yazılmamalıdır. Bu etiketler paketin tüm içeriğini, sterilizasyon tarihini, raf ömrünü ve sterilizasyondan sonra taşınacaksa hangi birime transfer edileceğini belirtmelidir [62].

2.5.3. Sterilizasyon Sonrası İşlemler

Sterilizasyon işlemi sonrasında paketler içindeki malzemeler kullanılıncaya kadar steril olarak kalmalıdır [62]. Bu süre paketleme malzemesinin kalitesine, depolama koşullarına, malzemelerin sterilizasyondan sonra transferinde oluşan koşullara ve malzemenin miktarına bağlıdır [58]. Steril malzemeler taşınma ve uzun süre bekletilme durumunda toz örtüleri ile kaplanmalıdır. Toz örtüleri yeni ve temiz olmalıdır. Steril malzemeler sterilizasyondan sonra iki saat içinde hava geçişine izin veren, sızdırmaz yapıda ve koruyucu olan bu toz örtüleri içine alınmalıdır. Sterilizasyona ait bilgilerin bulunduğu etiket ise toz örtüsü üzerinde değil, paket üzerinde bulunmalıdır. Paketler temiz alana alınırken toz örtüleri çıkartılarak alınmalıdır. Steril malzemenin dağıtımı için kullanılan araçlar ise sadece bu amaçla kullanılmalı, temiz ve kuru tutulmalıdır [59].

Steril edilmiş malzemeler, uygun depolama koşulları sağlanmış odalarda, toz ve kirden korunabilecekleri ortamda saklanmalıdır. Bu amaçla kapalı veya üzeri örtülü dolapların kullanımı tavsiye edilmektedir [3].

Depolama alanı sterilizasyon alanına bitişik olmalı, tercihen ayrı bölmeleri olmalı ve bu odaya giriş-çıkış sınırlı olmalıdır. Toz, nem, haşere, mikrop ve değişken sıcaklık/nem değerlerine müsaade etmeyen bir havalandırma sistemine sahip olmalıdır. Depolama alanında uygun çevre koşullarının sağlanması steril malzemenin kontaminasyon riskini en aza indirmektedir. Bu alanın sıcaklığı 18-22°C arasında, rölativ nem değeri ise %35-50 arasında tutulmalıdır. Eğer pakette sterilizasyon işleminden sonra hasar var ise, içerdiği malzeme steril kabul edilmemelidir. Çeşitli standartlarla steril edilen malzemelerin içeriğine göre steril kaldıkları raf ömürleri belirlenmiştir. En güvenilir raf ömrü bir haftadan az olarak kabul edilmektedir [63].

2.5.4. Otoklav Çeşitleri

Otoklavlar N-sınıfı, B-sınıfı ve S-sınıfı olmak üzere üç gruba ayrılmaktadırlar:

1. N-Sınıfı otoklavlar: N-Sınıfı otoklavlar, diş hekimliği uygulamalarında en çok kullanılan otoklavlardır. Genellikle tezgah üstü otoklavlardır. Bu otoklavlarda hava ile buhar herhangi bir vakum olmadan yer değiştirir. Kaynamaya başlayan

suyun oluşturduğu buhar kazan içindeki havanın dışarı çıkmasını sağlar. Daha sonra kazanın ısısı gerekli sterilizasyon sıcaklığına yükselir [64].

2. B-Sınıfı otoklavlar: İçi dolu-boş ve gözenekli tüm malzemelerin paketli veya paketsiz olarak sterilize edilmesi için uygundur [60]. Ön vakumlu otoklavlardır. Buhar oluşmadan önce kazan içindeki hava vakumla dışarı alınır. Bu otoklavlarda havanın transferi daha etkin, sterilizasyon daha hızlı ve verimlidir. Fakat rutin olarak kontrol testlerinin yapılması gerekmektedir [64].
3. S-Sınıfı otoklavlar: İçi dolu-boş, gözenekli, tekli-paketli ya da çoklu-paketli olarak akla gelecek her tür malzemenin sterilize edilmesi için uygundur. S-Sınıfı otoklavda vakum pompası bulunmamaktadır [60].

2.6. STERİLİTENİN KONTROLÜ

1995 yılında AAMI (Association for Advancement of Medical Instrumentation) tarafından sterilizasyon; kabul edilebilir sterilité güvence düzeyini sağlayacak ölçüde ortamın mikroorganizmalardan arındırılması (Sterility Assurance Level - SAL) olarak tanımlanmıştır. SAL; sterilizasyon işleminin bir milyon defa tekrarı sonucunda ancak bir süspansiyonda bir canlı spor kalma olasılığı, yani sterilizasyon işlemi sonrasında canlı spor kalma olasılığının 10^{-6} olması olarak tanımlanmaktadır. Sterilizasyon işleminin kontrolünün yapılabilmesi amacı ile uluslararası standartlar ve ulusal düzeyde bazı düzenlemeler bulunmaktadır. Sterilizasyon işleminde kullanılacak alet ve kimyasal maddeler için Avrupa Birliği bünyesinde Avrupa Standartları (European Norm - EN) geçerli kılınmış ve ülkemizde de bu standartların esas alınarak, Türk Standartları Enstitüsü bünyesinde oluşturulan bir komisyon tarafından Türkçe'ye çevrilerek yayınlanmıştır [3].

Kontrol basamakları [3]:

1. Cihaz kontrolü
2. Sterilizasyon işleminin yapılıp yapılmadığının kontrolü (maruziyet kontrolü),
3. Yük kontrolü,
4. Bohça içi kontrol,

5. Kayıt sistemi olarak sıralanabilir.

Sterilitenin kontrolü, fiziksel görüntüleme, kimyasal görüntüleme ve biyolojik görüntüleme olarak üç grupta toplanabilmektedir. Fiziksel görüntülemeyi sterilizatörden elde edilen kayıtlar ve doğru zaman, sıcaklık, basınç değerlerinde çalışıp çalışmadığını ölçmek oluşturmaktadır [63]. Cihazın kontrolü amacı ile cihaz üzerinde bulunan göstergeler kullanılmaktadır. Bu şekilde zaman, sıcaklık, buhar basıncı, bağıl nem ve gaz konsantrasyonu gibi parametrelerin ölçülmesi ve bunların personel tarafından takip edilmesi mümkün olmaktadır [54]. İşlemlerin öncesinde bu göstergelerin çalışma durumları kontrol edilmelidir. Belli aralıklarla teknik servis bakımı ve geçerlik (validasyon) kontrolünün yapılması da gerekmektedir. Otoklav üzerindeki göstergeler sterilizasyonun etkinliği açısından sınırlı bilgi vermektedirler. Steril edilmesi gereken malzemeye işlemin ne oranda ulaştığı hakkında bilgi vermezler. Bu amaçla kimyasal ve biyolojik indikatörler kullanılmaktadır [3].

Kimyasal görüntülemeyi kimyasal indikatör kullanımı oluşturmaktadır. Kimyasal indikatörler paketlerin içine, dışına veya hem içine hem dışına yerleştirilebilmektedir. Ayrıca boş ön vakumlu otoklavlarda havanın transferini test etmek amaçlı da kullanılmaktadır [63]. Kimyasal indikatörler, bir veya daha fazla sterilizasyon işlem parametresine cevap olarak kimyasal veya fiziksel değişikliklere uğrayan belli koşullarda renk değişimi gösteren veya katı fazdan sıvı faza geçerek sterilizasyon işlemi hakkında bilgi veren göstergelerdir. Kimyasal indikatörlerin kullanılma amacı yanlış ambalajlama, sterilizatörün yanlış yüklenmesi ve otoklavın arızalarından kaynaklanabilecek olası sterilizasyon hatalarının belirlenmesidir [36]. Sterilizasyon sürecinde doğru zaman ve sıcaklıkta sterilizasyon sağlanıp sağlanmadığını belirleyebilmek için kullanılmaktadırlar [65]. Bir kimyasal indikatörün işlemle ilgili olumlu sonuç vermesi indikatörle işlem gören malzemenin steril olduğu anlamına gelmez, sterilizasyon işleminin aranan parametrelerinin tam olarak uygulandığının göstergesi olarak kabul edilir [66]. Dolayısı ile sterilizasyon işleminin güvenilirliği için kimyasal indikatörler ve biyolojik indikatörler birlikte kullanılırlar [3].

Genel olarak kimyasal indikatörler ISO (International Organization for Standardization – Uluslararası Standart Organizasyonu) ve EN (European Norm – Avrupa Standartları)

standartlarınca taşıdıkları özelliklere göre sınıflandırılmışlardır [54]. Sterilizasyon için önemli standartlar EK-A bölümünde verilmiştir.

ISO 11140 Sınıf 1-6 arası sınıflaması [54]:

1. İşlem indikatörleri,
2. Spesifik testlerde kullanılan indikatörler,
3. Tek parametrelili indikatörler,
4. Çok parametrelili indikatörler,
5. Entegratörler,
- 6- Emülsiyon indikatörleri.

Bu sınıflamada her bir numara farklı bir işlemi tanımlamaktadır. İşlem indikatörleri; paketin sterilizasyon işlemine maruz kalıp kalmadığını anlamaya yardımcı olmaktadır. Bowie-Dick Testi sınıf-2 indikatördür ve vakumlu buhar sterilizatörlerinde doymuş buharın, steril edilmesi planlanan malzemeye hızlı ve düzgün bir şekilde girip girmediği, sterilizatörün kazan içindeki havayı çıkarma ve havanın yeniden girmesini önleme kabiliyetini test etmektedir [66].

EN 867-1 Sınıf A-D arası sınıflaması [54]:

- A- İşlem indikatörleri,
- B- Spesifik testlerde kullanılan indikatörler,
- C- Tek parametrelili indikatörler,
- D- Çok parametrelili indikatörler, olarak sınıflandırılmıştır.

Aşağıda otoklavlarda kullanılan kimyasal indikatörler verilmiştir:

Tablo 2.1: Otoklavla sterilizasyonda kullanılan kimyasal indikatörler [54].

İndikatörler	Değişim Tipi	Sterilizasyon İşlemi
Browne tüpleri	Kırmızıdan yeşile dönüşür.	Basınç altında, buhar veya kuru sıcaklıkta kullanılır.
Steam-Clox kağıtları	Mordan yeşile dönüşür.	Basınç altında buharda kullanılır.
Diack tüpleri	Erir ve renk bejden kırmızıya dönüşür.	Basınç altında buharda kullanılır.
Otoklav şeridi	Açık renkten koyuya dönüşür.	Basınç altında buharda kullanılır.
Bowie-Dick şeritleri	Açık renkten koyuya dönüşür.	Basınç altında buharda kullanılır.

Biyolojik indikatörler içerisinde sterilizasyona karşı en dayanıklı olarak bilinen bakteri sporları bulunmaktadır. *Bacillus* sporları, özellikle *B.steareothermophilus* biyolojik indikatörlerde kullanılmaktadır [67]. Her indikatör üzerinde içerdiği basil tipi, her şeritte bulunan koloni sayısı ve üretim numarası bulunmaktadır. Biyolojik indikatörler bohça içerisine konularak otoklavın kapak ağzı, köşeleri ve vakum çıkışları gibi sterilizasyon işleminin en zor gerçekleşeceği düşünülen yerlerine yerleştirilmekte ve işlem sonunda üretici firmanın önerileri doğrultusunda üreme kontrolü yapılarak sterilizasyon işleminde biyolojik ölümün sağlanıp sağlanmadığı test edilmektedir [54].

Biyolojik kontrol hazır ticari indikatörler haricinde bakteri sporları kullanılarak da gerçekleştirilebilir. Bakteri sporları özel tüplerde otoklavın ortasına ısı ve buharın yeterli ulaşabileceği şekilde yerleştirilir. Sterilizasyon uygun yapıldığında tüm sporların ölmüş olması gerekir [65].

1960 yılında Dr. Bowie ve Mr. Dick tarafından geliştirilmiş biyolojik indikatör olan Bowie-Dick testi ısıya duyarlıdır. Isıya bağlı olarak sterilizasyon işleminden sonra renk değiştirmektedir [11]. Bowie-Dick testi sadece ön vakumlu otoklav sistemleri için uygundur [58]. Buhar sterilizasyonunda etkin bir sterilizasyon için buharın steril edilecek tüm yüzeylere doymuş buhar formunda ulaşması, uygun sıcaklık ve sürede etkisini sürdürmesi gerekmektedir. Bowie-Dick testi, otoklav boşken en alt rafa, hava tahliyesi veya vakum pompasına en yakın yere konmakta ve cihaz 134°C’de 3,5 dakika veya 121°C’de 15 dakika süreye ayarlanarak çalıştırılmaktadır. Program bitiminde test yaprağı kontrol edilmektedir. Sterilizasyon işleminde herhangi bir sorun yoksa tüm çizgilerin aynı tonda referans renge dönmesi beklenir. Bowie-Dick testinin her gün bir kere cihazın fonksiyonlarını test etmek amacı ile uygulanması ve o gün yapılacak işlemlere başlamadan önce cihaza ait gösterge olarak kaydının saklanması gerekmektedir [3].

Association for Advancement of Medical Instrumentation (AAMI), biyolojik indikatör test paketlerinin otoklavların ilk montajlarında, tamir gerektiren bir arızasından sonra ve rutin olarak en az haftada bir, ideal olarak her gün, vücuda implante edilecek cihazların sterilizasyonunda ise her yükte kullanılması ve mümkünse bu son durumda biyolojik indikatör test sonuçlarının alınmasına kadar malzemenin kullanılmadan beklenmesini

önermektedir. Centers for Disease Control and Prevention (CDC – Hastalık Kontrolü ve Önleme Merkezleri) biyolojik indikatörlerin haftalık kullanılmasını, implant durumunda her yüke konulmasını önermektedir [54].

Maruziyet kontrolü için, otoklav bandı kullanılarak renk değişimi sonucu paketin sterilizasyon işlemine tabi tutulup tutulmadığını anlaşılmaktadır. Otoklav bandının, sterilizasyon işleminde açılmayacak ve paketler üzerinde kalıntı bırakmayacak kalitede olmasına ve personelin sterilizasyona girmiş ya da girmemiş paketleri rahatça ayırt etmesini sağlayan nitelikte renk değişimi gösteriyor olmasına özen gösterilmelidir [3].

Bohça içi kontrolü kimyasal indikatörlerle yapılmaktadır. Kimyasal indikatörler, standart boyutlardaki bir paketin, buhar, etilen oksit veya sıcaklık gibi etkenlerin en zor ve geç ulaştığı düşünülen kısmına yerleştirilmeli ve üretici firma önerileri doğrultularında indikatörde oluşan renk değişimleri yorumlanarak, sterilizasyon işleminin gerektiği şekilde tamamlanıp tamamlanmadığı hakkında bilgi edinilmelidir [3].

Kimyasal indikatörlerin farklı koşullarla renk değiştirmesi, hangi zaman hangi tipin kullanılacağına seçilmesinde kolaylık sağlayabilir [11]:

- Isı duyarlı kimyasal indikatörler, belirlenen ısının paketin içine ulaşp ulaşmadığını görmemizi sağlamaktadır. Ancak bu indikatöre göre ısı yeterlilik kontrolünden geçmiş işlem, yükleme veya paketleme hatası sebebiyle gerçekte steril edilememiş olabilmektedir.
- Çok parametrelili işlem indikatörleri, ısı ve zaman değerleri veya gaz konsantrasyonu ve sterilizasyon süresi gibi birkaç veriyi elde etmemizi sağlayabilmektedir. Paket içine yerleştirildiğinde aslında kontaminasyona sebep olan mikroorganizmaların öldüğüne emin olmamızı sağlamaktadır.
- Bazı indikatörler sadece paketlerin otoklavda sterilizasyon işlemine girip girmediğini ayırt etmeye yarar. Paketin dış yüzüne yerleştirilen indikatör sadece dış yüzeyin steril olduğunu gösterir ve paketin içi hakkında bilgi sağlamamaktadır.
- Bowie-Dick test indikatörleri havanın otoklav içerisinde etkin hareket edip etmediğini görmemizi sağlamaktadır.

Uygun cihaz çevriminde, standart ölçülerde hazırlanmış ve indikatörlerin yerleştirildiği paketlerin, ideal sterilizasyon standardını yakalayabilmesi için, sterilizatöre uygun yüklenmesi, sterilizasyon işleminin kalitesini ve performansını direkt etkileyen bir faktördür. Dolayısı ile hem paketlenen malzemelerin, hem de sterilizatörün yükleme şeklinin ideal olmasına özen gösterilmelidir. Bu amaçla, gerek standartların önerilerine ve imalatçı firmanın sterilizatörün yüklenmesine yönelik yazılı talimatlarına mutlaka dikkat edilmelidir [3].

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MALZEME

3.1.1. Otoklav

Bu çalışmada dik tip otoklav (Hirayama Hiclave HV-85) (Şekil 3.1) kullanılmıştır.



Şekil 3.1: Dik tip otoklav (Hirayama Hiclave HV-85).

Otoklavın özellikleri şöyledir [68]:

- 85 litre iç hacim (Şekil 3.2)
- ÇapxDerinlik: 420x615mm
- İç yüzey yapısı: SUS 304 Paslanmaz çelik (Şekil 3.2)
- Sterilizasyon sıcaklık aralığı: 105-128°C
- Ön ısıtma: 45-60°C
- Besiyeri döngüsü: 60-100 °C
- Maksimum çalışma basıncı: 1,6 bar
- Zamanlayıcı: 1 dakika-7 gün

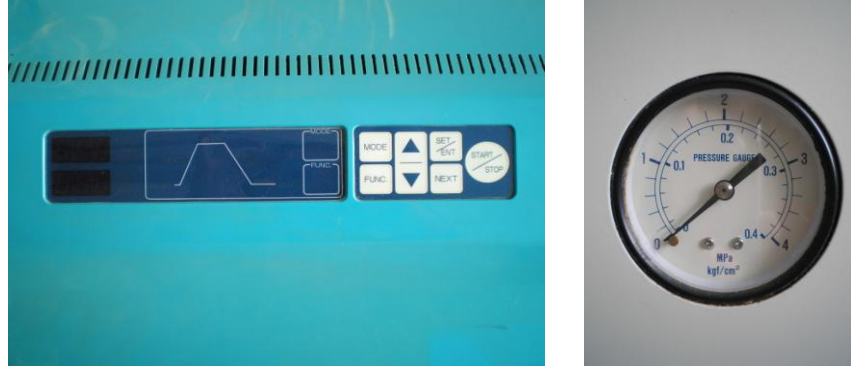
- Sterilizasyon süresi: 1-250 dakika
- Kapak kilidi: Tek el ile açılıp kapanabilen sürgü tip (Şekil 3.3)
- Güvenlik özellikleri: Elektromanyetik kilit sistemi, emniyet vanası, düşük su seviyesi kesici, aşırı basınç kesici, aşırı ısınma kesici
- Göstergeler: Dijital LED (Light Emitting Diode - Işık Yayan Diyot), ve analog basınç göstergeleri (Şekil 3.4)
- Dış hücre yapısı: Elektrostatik toz boyalı paslanmaz çelik
- Güç: 3000 Watt
- Besleme: 220V, 50 Hz şehir şebeke cırcerkanı
- Dış ölçüler: 660x1000x650 mm



Şekil 3.2: Dik tip otoklavın iç hacmi (Hirayama Hiclave HV-85).



Şekil 3.3: Dik tip otoklavın kapak kilidi (Hirayama Hiclave HV-85).



Şekil 3.4: Dik tip otoklavın dijital LED göstergesi, kontrol paneli ve analog basınç göstergesi (Hirayama Hiclave HV-85).

3.1.2. Sıcaklık-Basınç Ölçüm Cihazı

Bu çalışmada basınç ve sıcaklık ölçümleri için, basınç-sıcaklık ölçüm cihazı (Ebro EBI AE-S-2000) kullanılmıştır (Şekil 3.5). Cihaz sistemi içerisinde bulunan veri kaydediciler (data logger) sayesinde otoklav içerisindeki sıcaklık ve basınç ölçümleri, harici bir üniteye bağlı kalmadan yapılabilen ve hafızaya alınabilmektedir.



Şekil 3.5: Sıcaklık-basınç ölçüm cihazı ekipmanları (Ebro EBI AE-S-2000).

Sistem iki adet veri kaydedici modülünden oluşmaktadır (Şekil 3.6). Her ikisi de termal koruyucu özellikte silikon koruyucu kılıf içerisindedir. Bunlardan ilki, iki adet sıcaklık ve bir adet basınç kanalına, diğeri ise bir adet sıcaklık kanalına sahiptir.



Şekil 3.6: Veri kaydediciler.

Birinci veri kaydedici modülü şu özelliklere sahiptir:

- Isı hafızası 2x6000 okuma kapasitesine sahiptir.
- Isı ölçüm aralıkları -40°C ve $+150^{\circ}\text{C}$ arasındadır.
- Isı ölçüm doğruluğu $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ve çözünürlüğü $0,1^{\circ}\text{C}$ 'dir.
- Basınç ölçüm aralığı 0-4 bar arasındadır.
- Basınç hafızası 6000 okuma kapasitesine sahiptir.
- Basınç ölçüm doğruluğu $\pm \%0,5$ ve çözünürlüğü 1 milibar'dır.

İkinci veri kaydedici modülü ise şu özelliklere sahiptir:

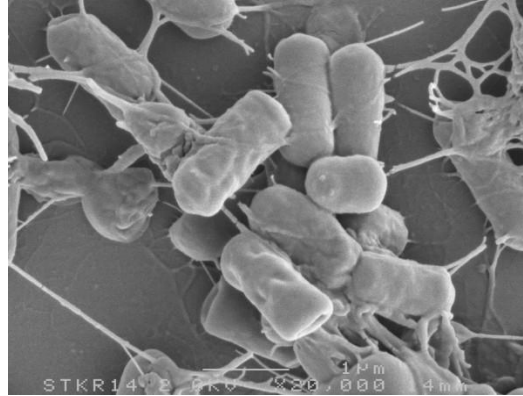
- Isı hafızası 15000 okuma kapasitesine sahiptir.
- Isı ölçüm aralıkları -40°C ve $+140^{\circ}\text{C}$ arasındadır.
- Isı ölçüm doğruluğu $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ ve çözünürlüğü $0,1^{\circ}\text{C}$ 'dir.

Cihazın veri kaydedicileri ile otoklav içerisinde alınan ısı ve basınç değerleri aynı doğrulukta orijinal yazılım vasıtası ile bilgisayara aktarılmış ve grafik olarak görüntülenmiştir.

3.1.3. *Bacillus subtilis* ve Üreme Ortamı

Bu çalışmada, biyolojik indikatör olarak *Bacillus subtilis* var. *niger* (ATTC 9372) suşu kullanılmıştır. Bu bakteri türü spor formlarının ısıya dayanıklılığı ile bilinmektedir.

B.subtilis (Şekil 3.7); oksijenli solunum veya geçici oksijenli solunum yapar. 20-30°C’de üremektedirler. Bu bakteriler Gram-pozitiflerdir. Yani hücre duvarı Gram-negatif bakterilerden daha kalındır. Hücre çeperinde % 90 peptidoglukan, % 10 teikoik asit denilen ve peptidoglukanın içinde yer alan bir asidik polisakaritten oluşmaktadır. Gram boyama sonucu mor renkli görünmektedirler. Hücre çeperi hücreye fiziksel zararlardan korunmak için iyi bir bariyer sağlamaktadır [69].



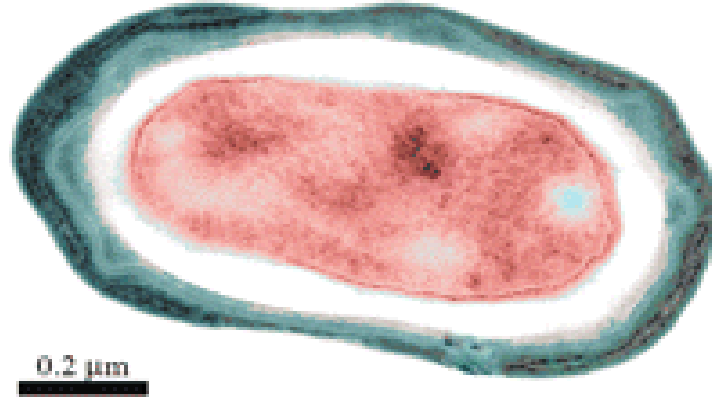
Şekil 3.7: *B.subtilis*'in mikroskopik görüntüsü [70].

B.subtilis insanlar için patojen değildir ancak gıdaları kontamine ederek gıda zehirlenmelerine yol açmaktadır [2]. *B.subtilis* sporları ekstrem (uç) sıcaklıklara dayanıklı oldukları için bir yemeğin pişmesi esnasında bile canlı kalabilmektedirler ve gıda zehirlenmesine sebep olmaktadır [71].

B.subtilis çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır:

- *B.subtilis* tarafından üretilen bazı ekstrasellüler enzimler kuru temizleme deterjanlarında katkı maddesi olarak kullanılmaktadır [72].
- Amilaz enzimi üretiminde kullanılmaktadır [73].
- Laboratuvar çalışmaları için model bir organizmadır.

Bölünerek çoğalan bu bakterilerin ısı değişimleri, asit, tuz, radyasyon, açlık ve kuraklık gibi değişken çevresel faktörlere dayanıklı spor formu Şekil 3.8’de gösterilmiştir. Spor, üreme şekli değil, bir hücre farklılaşmasıdır.



Şekil 3.8: *B.subtilis* spor formu [74].

B.subtilis için büyüme ortamı olarak triptik soy agar (TSA, CM0131, Oxoid) besiyeri kullanılmıştır. Büyüme ortamının içeriği Tablo 3.1’de verilmiştir.

Bakterilerin çoğaltılması için kullanılan bu besiyeri üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır. Bunun için 40 gram TSA’dan tartılarak 1 litre distile suya ilave edilmiştir. Besiyerinin pH’si 7,0’a ayarlanarak otoklavda 121°C ve 15 dakika süre ile sterilizasyonu sağlanmıştır. Otoklavdan çıkan besiyeri sıcaklığı 50°C’ye düştükten sonra plastik steril Petri kutularına dökülmüştür.

Tablo 3.1: TSA besiyerinin (Oxoid, CM0131) içeriği.

TSA besiyerinin içeriği	Gram/litre
Tryptone	15,0
Soya peptone	5
Sodium chloride	5
Agar	15,0
pH 7,3 ±0,2; 25 °C	

3.1.4. Laboratuvar Aletleri

1. Steril cam deney tüpü
2. Bir litrelik cam balon
3. Steril ölçülü plastik öze (4 mm)
4. Steril plastik Petri kutusu (90 mm çapında)
5. Hidrofof pamuk
6. Steril disk Watman filtre kağıdı.(4 mm çapında).
7. Steril 1ml'lik cam pipet (Precicolor, HBG, Germany)
8. Steril 10ml'lik cam pipet (Precicolor, HBG, Germany)
9. Steril tel (Otoklavda 121°C de 15 dakika steril edilmiştir.)
10. Steril çelik pens (Alevden geçirilerek steril edilmiştir.)
11. Etüv (Memmert) (Şekil 3.9)
12. Vorteks (Janke & Kunkel) (Şekil 3.9)



Şekil 3.9: Kullanılan vorteks (Janke & Kunkel) ve etüv (Memmert).

3.1.5. Fizyolojik Tuzlu Su

8,5 gram sodyum klorür tartılarak 1000 ml distile su içeren cam balona konulmuştur. Cam balonun ağzı hidrofop pamuk ile kapatılarak otoklavda 121°C ve 15 dakika süre ile sterilizasyonu sağlanmıştır.

3.1.6. Bakteri Süspansiyonunun ve Disklerin Hazırlanması

Bacillus subtilis var. niger (ATTC 9372) bakteri suşunun TSA besiyerine kültürü yapıp 35°C'de 48 saat etüvde bekletilmiştir. TSA besiyerinde üreyen bakteri oda ısısında bir hafta daha bekletilmiştir. Spor oluşumu sağlanan bu son kültürden 4-5 bakteri kolonisi alınıp 10 ml'lik fizyolojik tuzlu suya inoküle yaparak bir bulanıklık elde edilmiştir. Bu bulanıklık 0,5 McFarland bulanık tüpüne göre ayarlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonun ml'sinde yaklaşık 10^8 koloni oluşturan birim (cfu; Colony Forming Units – Koloni Oluşturan Birim) bakteri bulunmaktadır. Bakteri süspansiyonundan 6 mm çaplı steril filtre kağıtları içeren bir deney tüpünün içine konulmuştur. Her disk yaklaşık 0.01 ml sıvı emdiğinden dolayı her diskte yaklaşık 10^6 cfu spor içerdiğini düşünülmüştür. Spor içeren diskler etüvde 2 saat bekletilerek kurutulmuştur (Şekil 3.10) [75, 76, 77].



Şekil 3.10: Hazırlanan diskler.

Çalışmada kullanılan sıcaklık-basınç ölçüm cihazı İstanbul Üniversitesi Döner Sermaye İşletme Müdürlüğü Biyomedikal ve Klinik Mühendisliği Birimi'nden temin edilmiştir. Diğer tüm malzemeler İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarları'ndan temin edilmiştir.

3.2. YÖNTEM

1. Steril tel kullanarak 10 ml ve 1 ml pipet içine ayrı ayrı sporlu bakteri içeren 3 disk yerleştirilmiştir. Birinci disk pipetin en ucuna, 2. disk pipetin ortasına ve 3. disk ise en başına (pamuklu ucu) olacak şekilde konulmuştur (Şekil 3.13). Her deneyde bu şekilde üç adet 10ml ve üç adet 1 ml pipet hazırlanmıştır.



Şekil 3.11: Pipet içine yerleştirilen disklerin konumları.

2. Otoklav denenecek ısı ve süreye ayarlanmıştır. Hazırlanan pipetler otoklava yerleştirilmiştir. Sıcaklık-basınç ölçüm problemleri bilgisayarda ayarlandıktan sonra aynı otoklava konulmuştur ve otoklav çalıştırılmıştır.

Deneyler 100°C, 95°C, 90°C, 85°C, 80°C, 75°C ve 70°C'de yapılmıştır. Sterilizasyon süresi bu dereceler için önce 1 dakika, daha sonra ise 5 dakika olarak ayarlanmıştır.

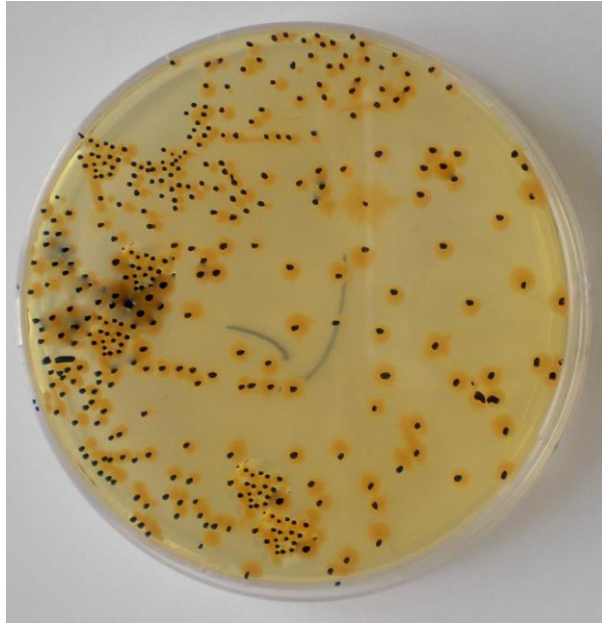
3. Süre dolunca otoklav açılıp pipetler çıkartılmıştır. Her pipetin içinden çıkartılan 3 disk ayrı ayrı 10 ml steril fizyolojik tuzlu su içeren tüplere atılmıştır. Her tüp vorteks ile 3 kez 30 saniye karıştırıldıktan sonra steril ölçülü öze yardımı ile TSA besiyerine ekilmiştir. 35°C'de 48 saat sonra sporlu bakteriler sayılmıştır (TN=Test number).
4. Kontrol amacıyla aynı deneyler otoklav kullanmadan yapılarak her diskteki sporlu bakteriler sayılmıştır (KN=control number).
5. Deneyler 2-3 kez tekrarlanarak ortalaması alınmıştır.
6. Sonuçların değerlendirilmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$TN/KN \times 100$$

Elde edilen oran belirlenen ısı ve sürede otoklavın sporlu bakteri sayısında sağladığı azalma yüzdesi olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Bir diskteki sporlu bakteri sayısını belirlemek amacıyla yapılan kontrol deneyinde bakteri sayısı 412×10^3 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1). Yüzde azalma oranları $KN = 412 \times 10^3$ alınarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.1: Kontrol deneyinde üreyen *B.subtilis* kolonileri.

Sterilizasyona ait Petri görüntüleri, üreme sonuçları, sıcaklık-basınç grafikleri ve ayrıntı grafikleri bu bölümde verilmiştir. Petri görüntülerinde (1), (2) ve (3), 1., 2. ve 3. disklerden hazırlanarak yapılan ekimleri belirtmektedir.

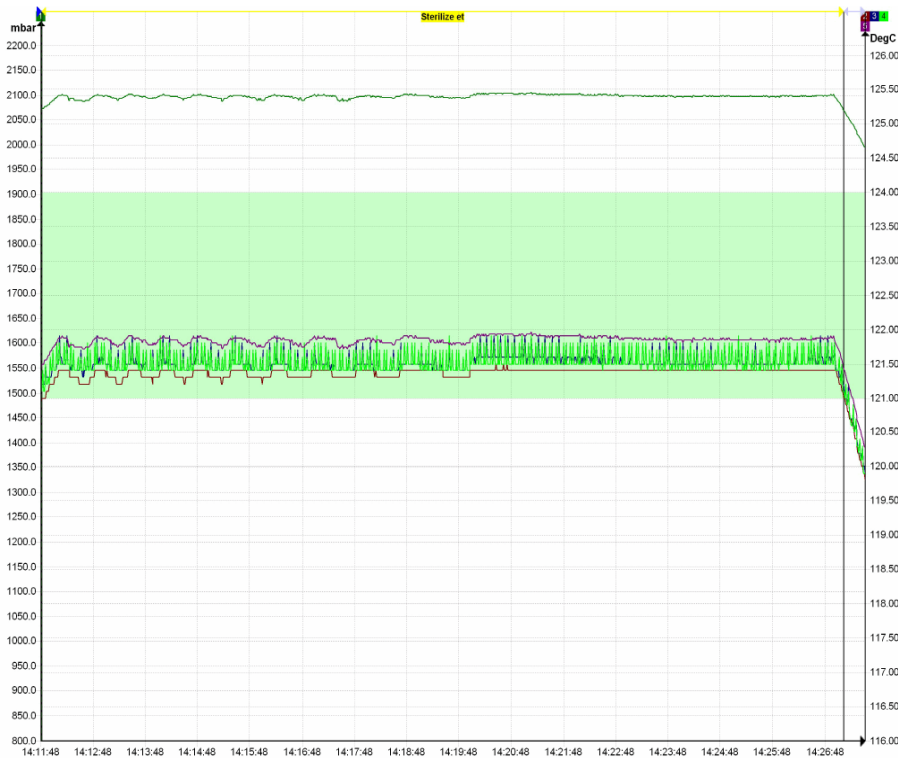
Sıcaklık-basınç ölçüm cihazı bilgisayarda orijinal yazılım aracılığıyla her defa uygulanacak sıcaklık ve sterilizasyon süresi değerlerine göre ayarlanarak hazırlanmıştır. Veri kaydediciler otoklavın çalıştırılmasından itibaren 90 dakika boyunca veri toplamak üzere ayarlanmıştır. Otoklav bu süreden sonra uygun sıcaklığa düştüğünde, yani tüm deneylerde otoklavın üzerindeki dijital sıcaklık göstergesi 50°C 'yi gösterdikten sonra otoklav kapağı açılmıştır.

Veri kaydediciler ve pipetler otoklavdan alındıktan sonra veri kaydediciler tarafından kaydedilen veriler yazılım yardımıyla değerlendirilmiş ve ölçümler grafik olarak elde edilmiştir. Pipetlerdeki disklerin ekimleri de laboratuvar ortamında belirlenen yöntem takip edilerek yapılmış ve daha sonra pipetler ve otoklav bir sonraki deneyi uygulamak üzere tekrar hazırlanmıştır.

Sıcaklık-basınç ölçüm cihazının ölçüm değerlendirmesini belirttiği raporlardan biri örnek olarak Ek-B bölümünde verilmiştir. Bu bölümde ise bizim için önem teşkil eden, raporda ‘Proses genel görünümü’ ve ‘Sterilizasyon ayrıntıları’ başlıkları altındaki grafikler kullanılmıştır.

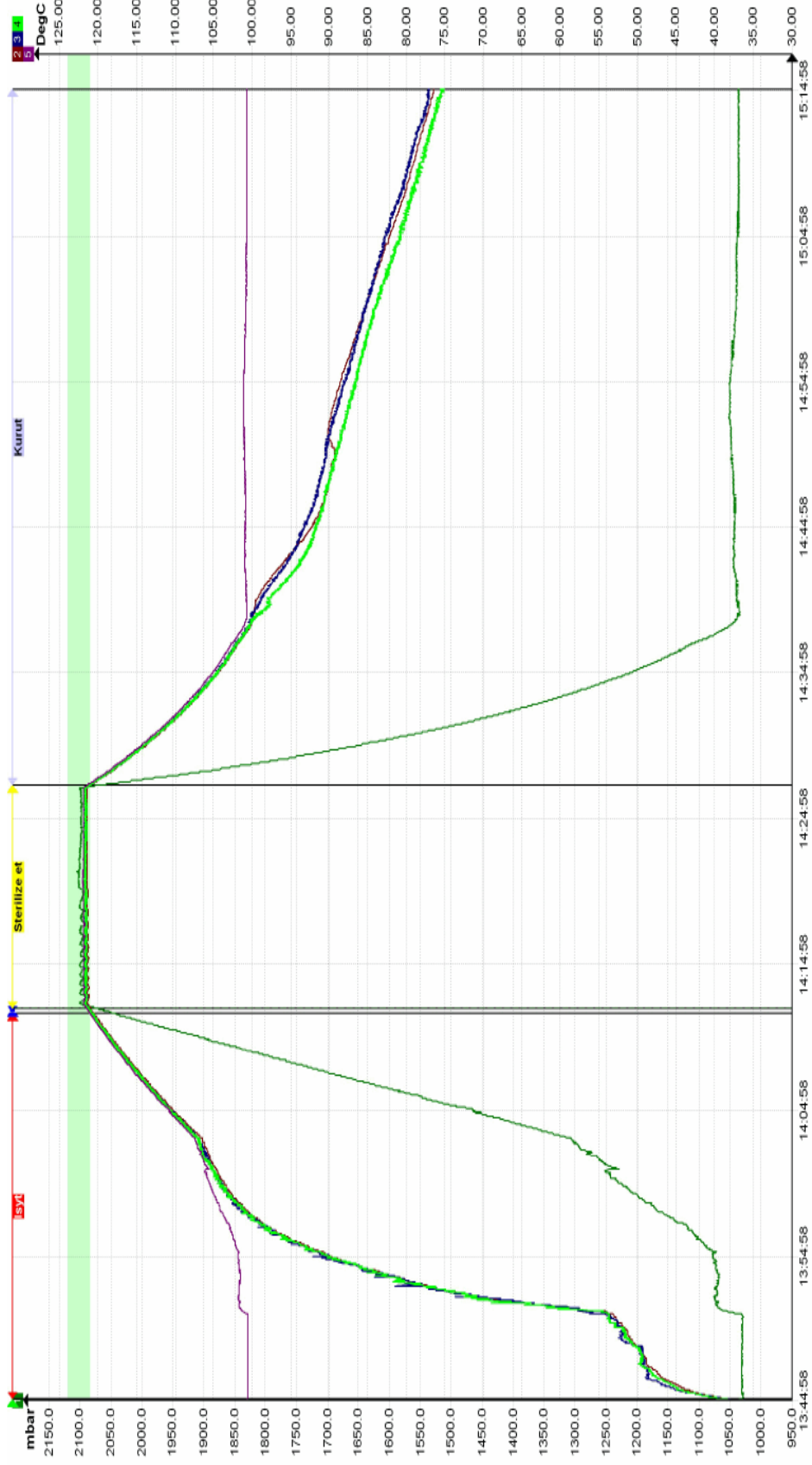
İlk olarak otoklavda sterilizasyonda standart olarak kullanılan 121°C’de 15 dakikalık sterilizasyon değeri kullanılarak deney yapılmıştır.

121°C ve 15 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:



Şekil 4.2: 121°C, 15 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

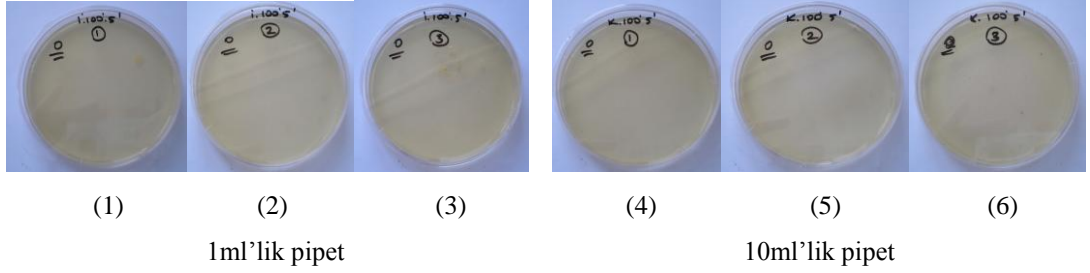
■ ■ ■ renklere; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengine; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.3 : 121°C, 15 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renkleri; ölçülen sıcaklıklar, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.

100°C ve 5 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

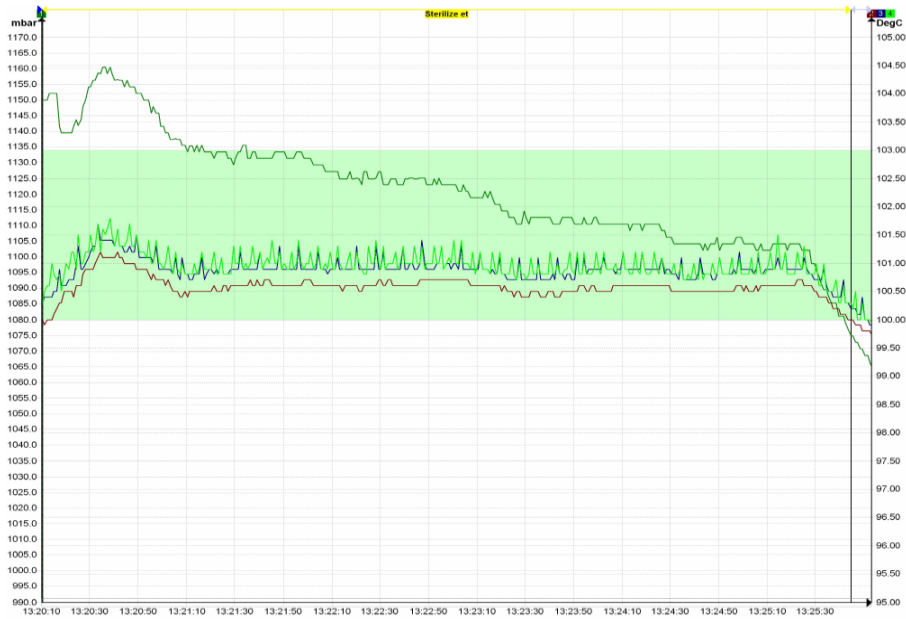


Şekil 4.4: 100°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

100°C'de sterilizasyon süresi 5 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.8). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

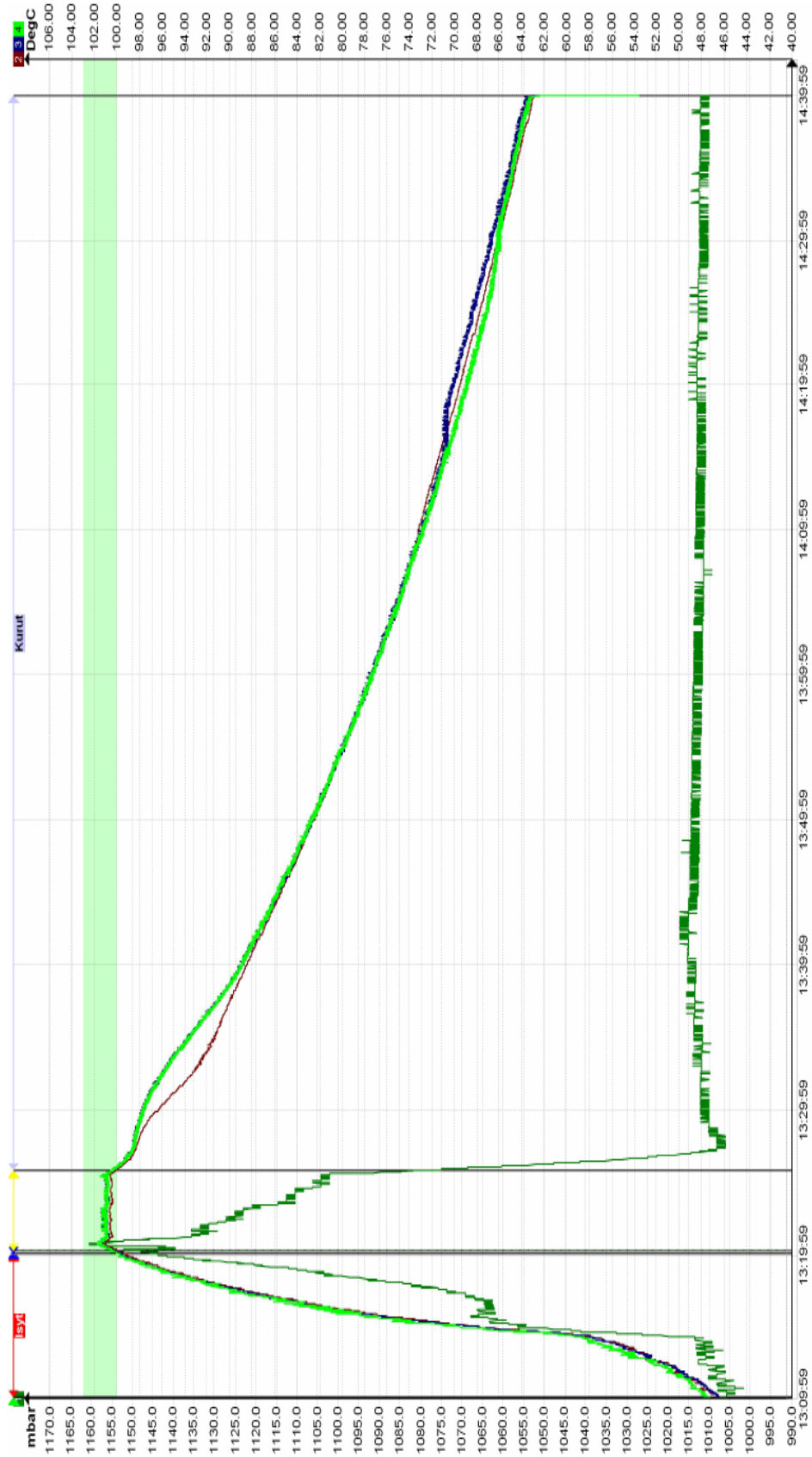
Tablo 4.1: 100°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	<u>Disk No</u>			<u>Disk No</u>		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.5: 100°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

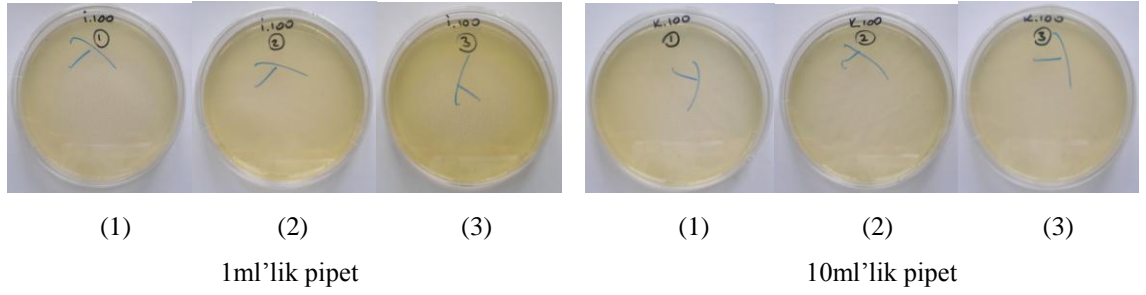
■ ■ ■ renklere; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.6: 100°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renklere; ölçülen sıcaklıklar, ■ renge; ölçülen basıncı göstermektedir.

100°C ve 1 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

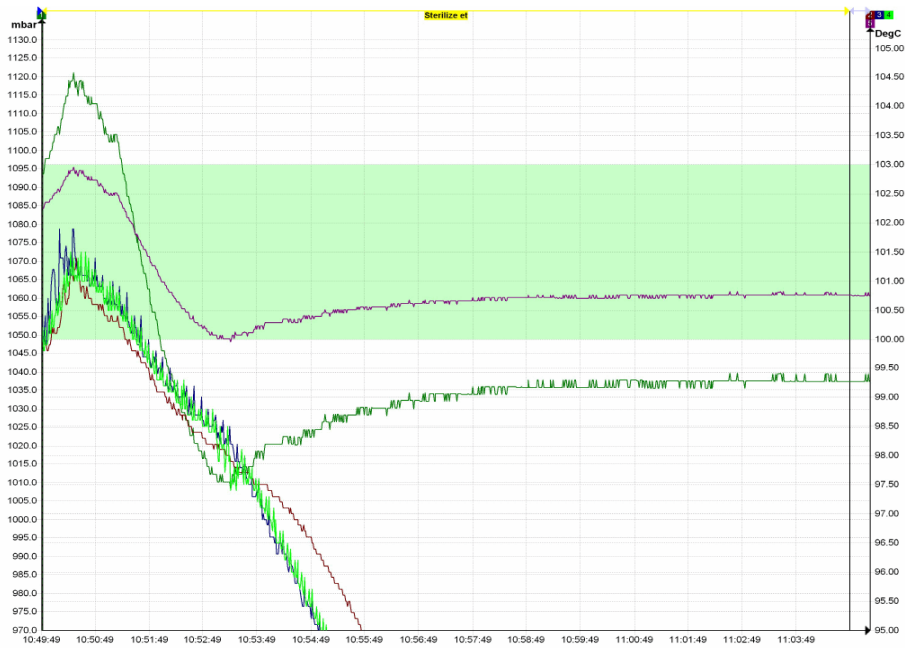


Şekil 4.7: 100°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

100°C'de sterilizasyon süresi 1 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.1). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

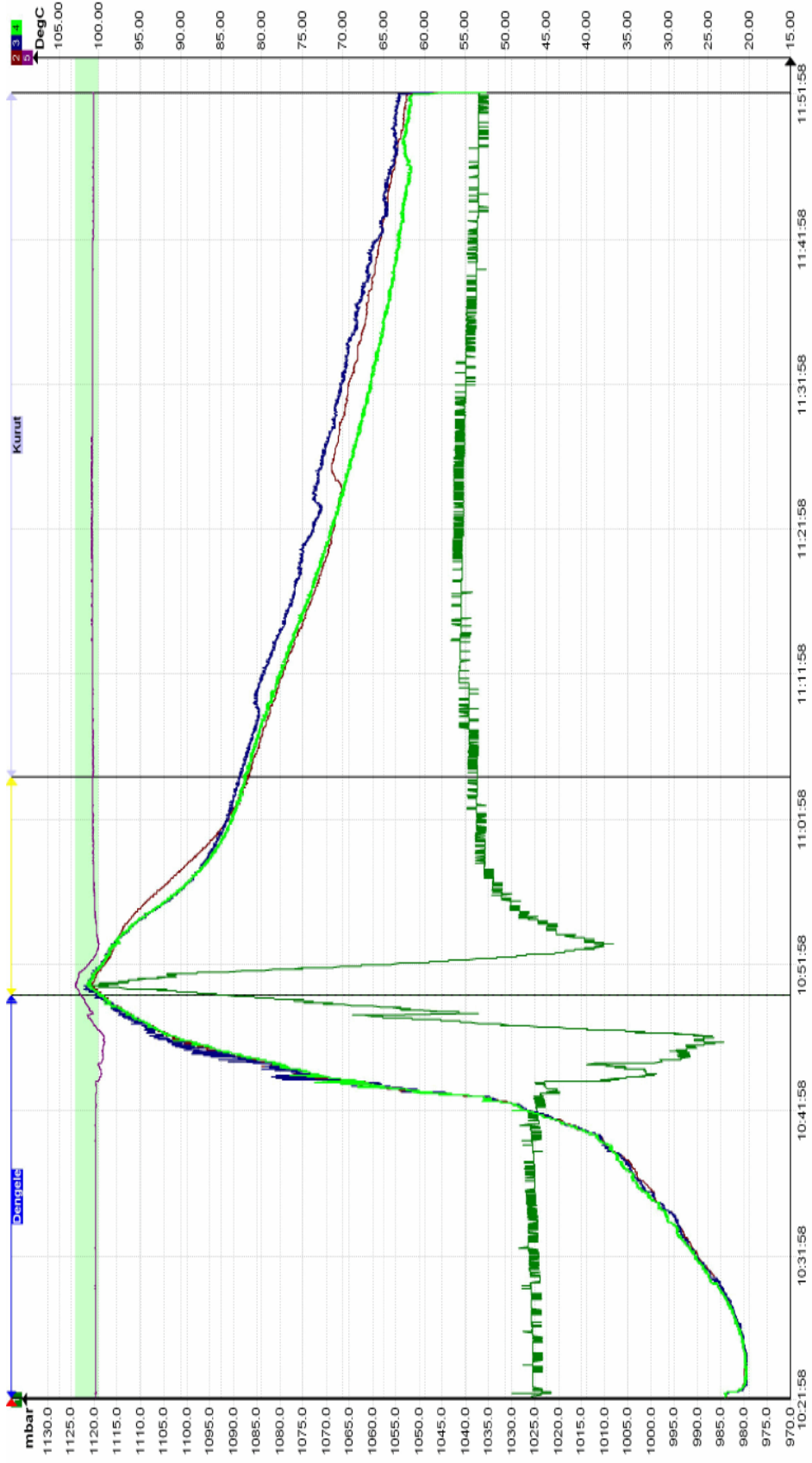
Tablo 4.2: 100°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	<u>Disk No</u>			<u>Disk No</u>		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.8: 100°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrınıt grafiği.

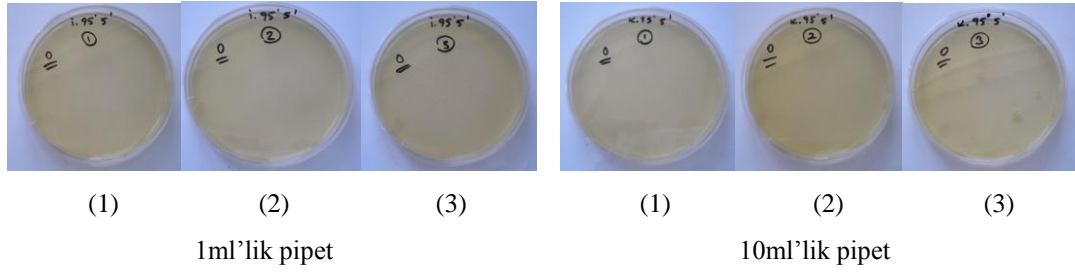
■ ■ ■ renklere; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengine; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.9: 100°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renklere; ölçülen sıcaklıklar, ■ renge; ölçülen basıncı göstermektedir.

95°C ve 5 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

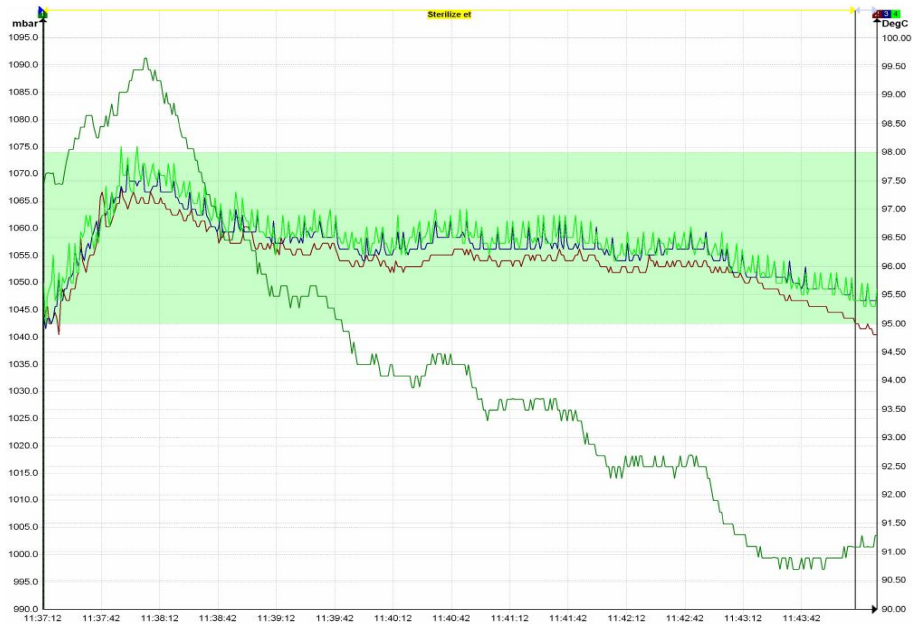


Şekil 4.10: 95°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

95°C'de sterilizasyon süresi 5 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.9). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

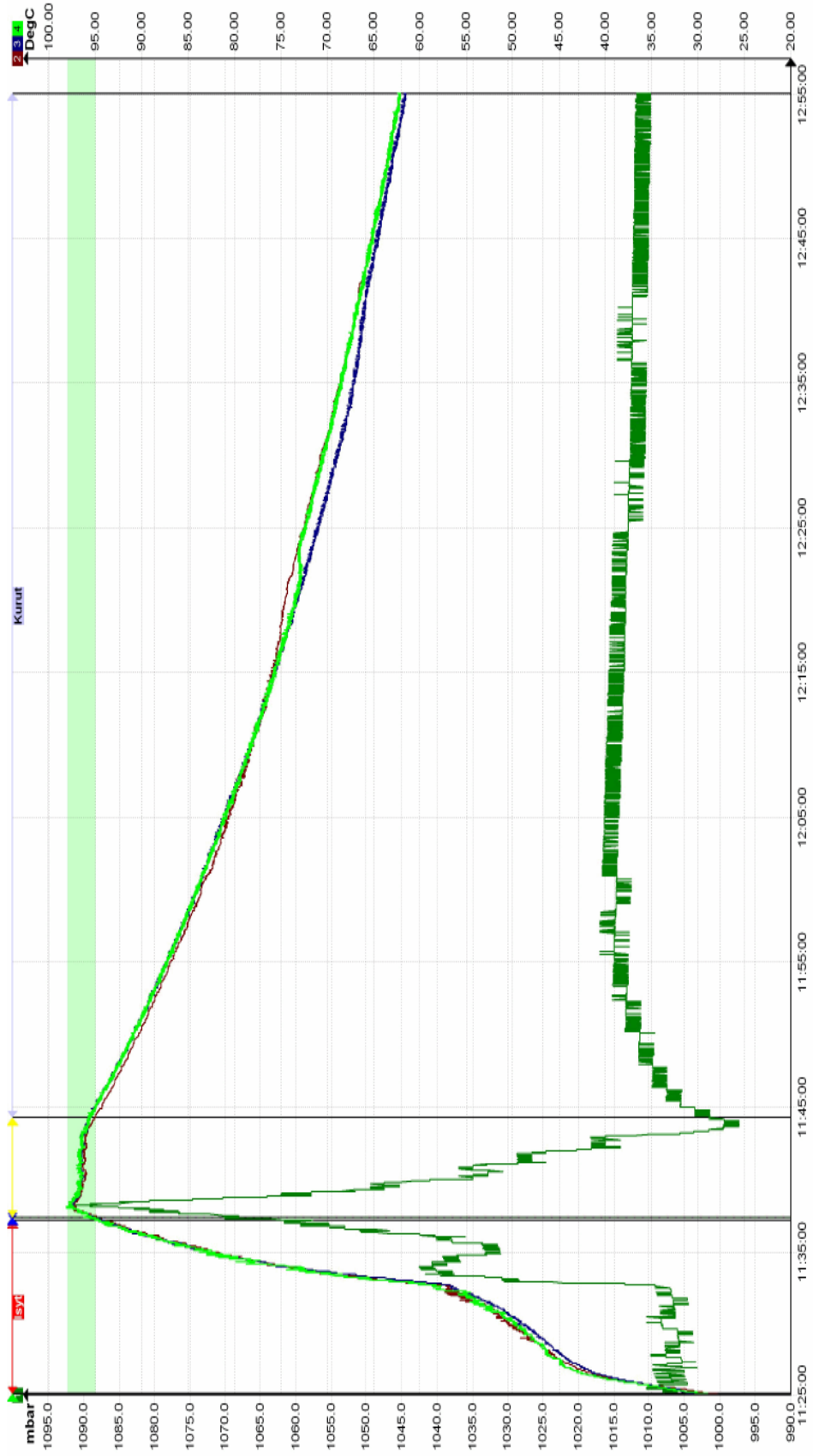
Tablo 4.3: 95°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	<u>Disk No</u>			<u>Disk No</u>		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.11: 95°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

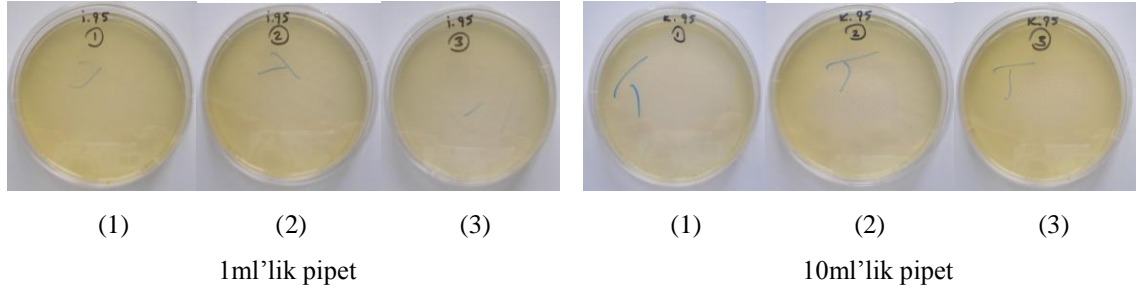
■ ■ ■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.12: 95°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.

95°C ve 1 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

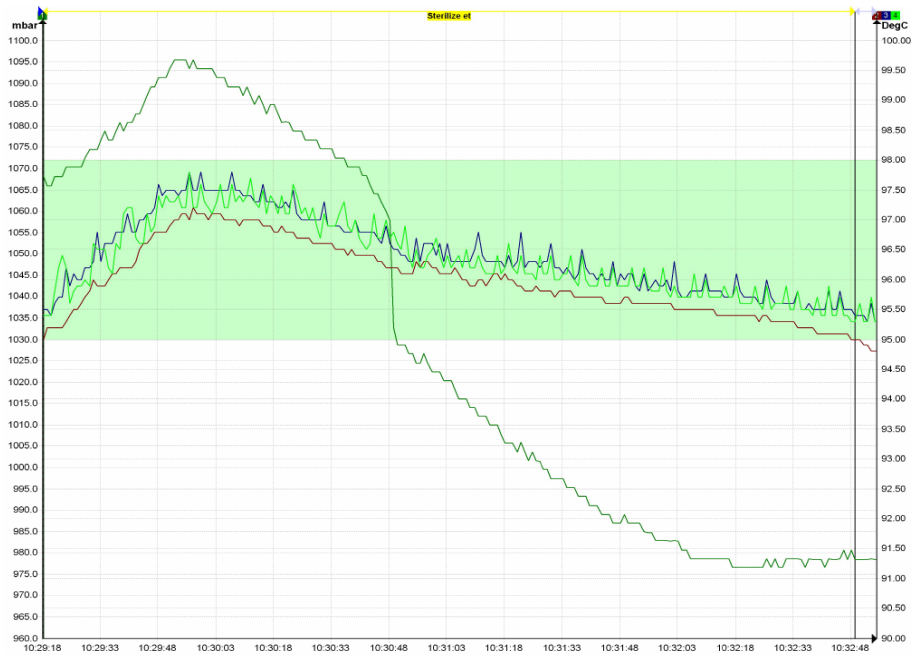


Şekil 4.13: 95°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

95°C'de sterilizasyon süresi 1 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.2). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

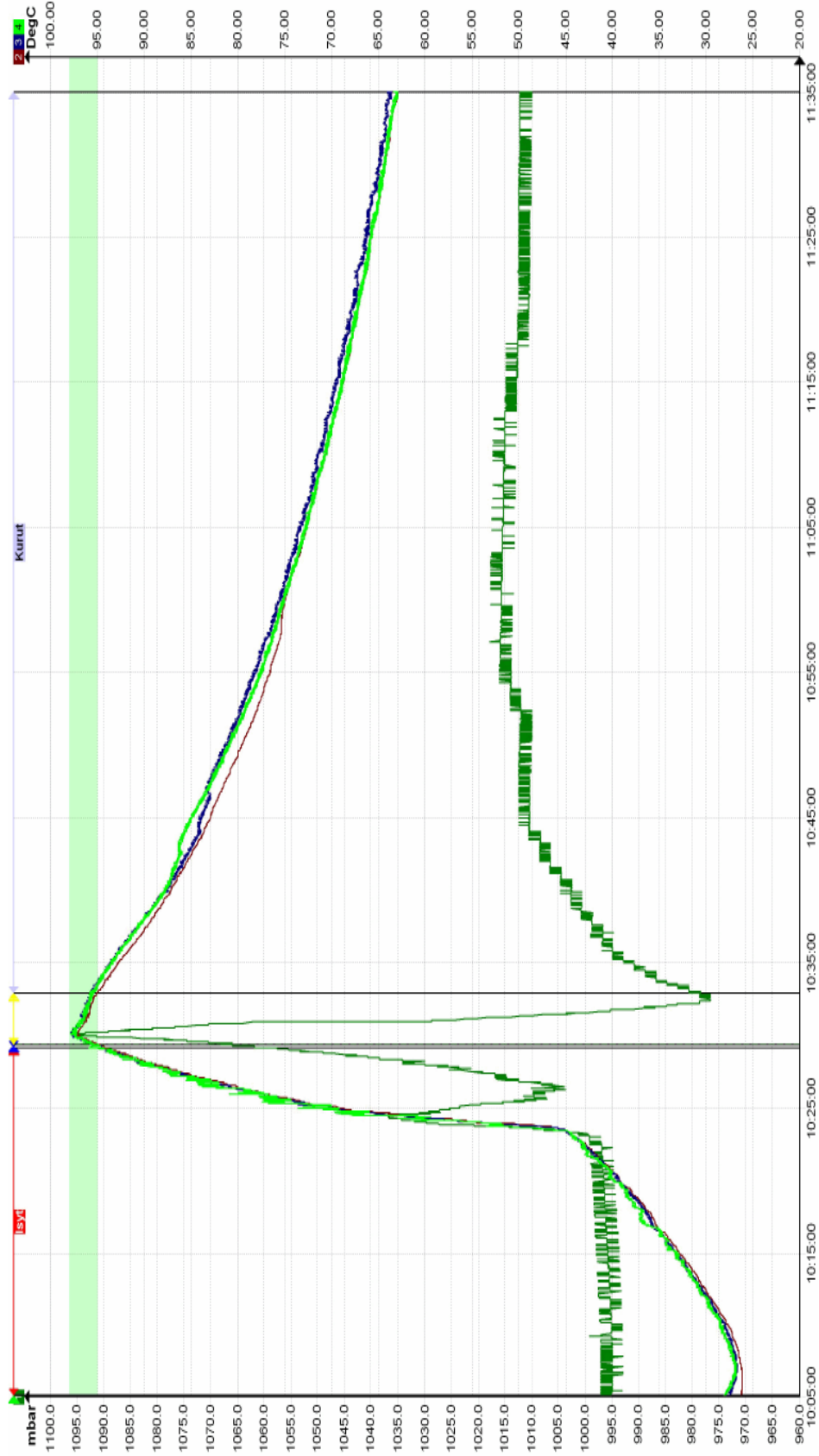
Tablo 4.4: 95°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	<u>Disk No</u>			<u>Disk No</u>		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.14: 95°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

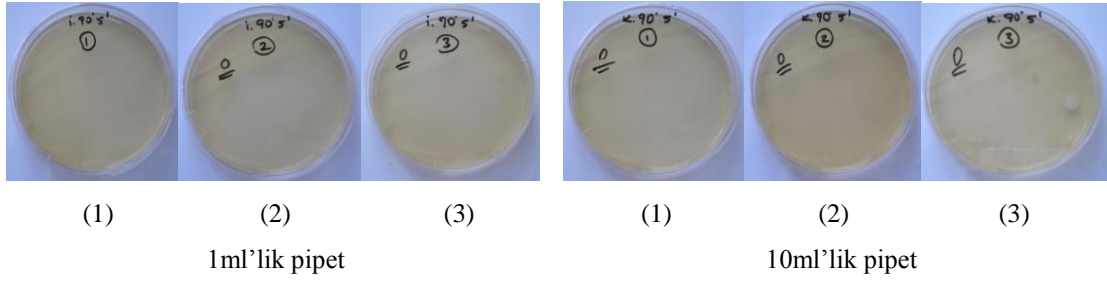
■ ■ ■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.15: 95°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renklere; ölçülen sıcaklıklar, ■ renge; ölçülen basıncı göstermektedir.

90°C ve 5 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

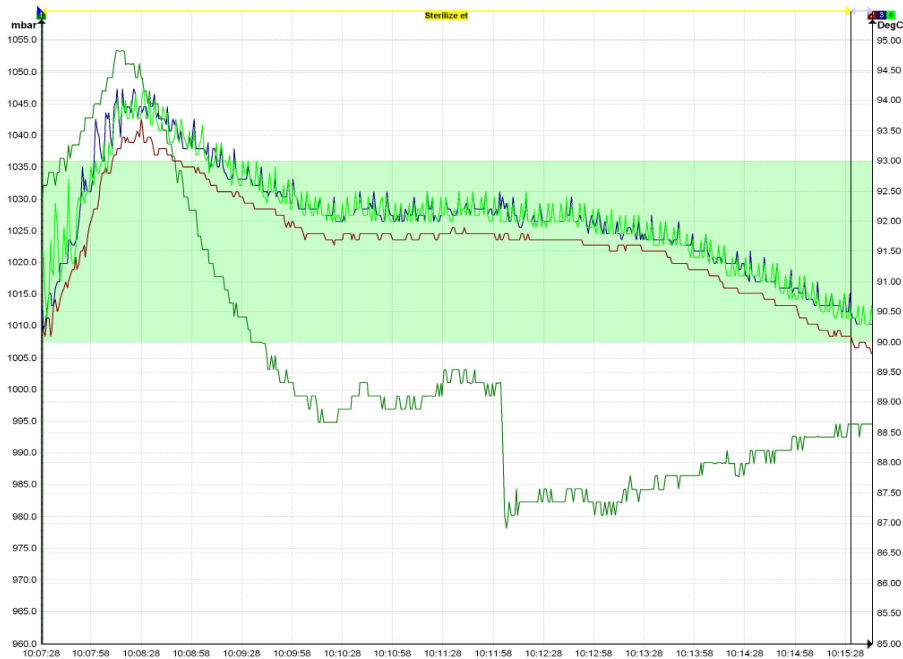


Şekil 4.16: 90°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

90°C'de sterilizasyon süresi 5 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.10). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

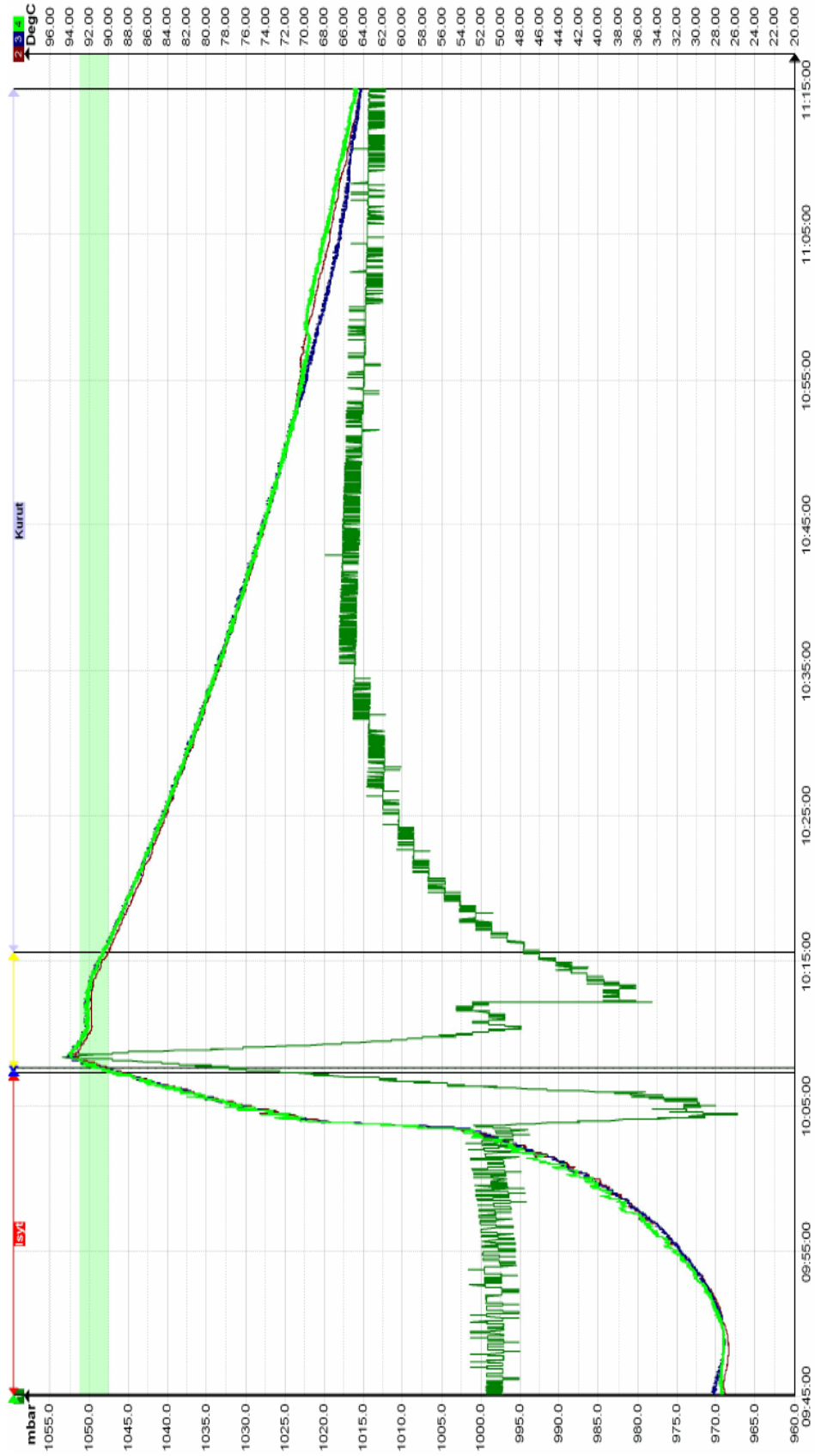
Tablo 4.5: 90°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	Disk No			Disk No		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.17: 90°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

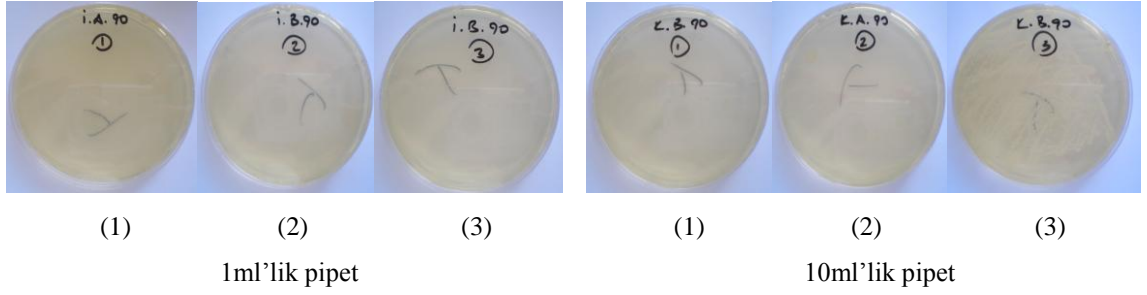
■ ■ ■ renklere; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengine; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.18: 90°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renkleri; ölçülen sıcaklıklar, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.

90°C ve 1 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

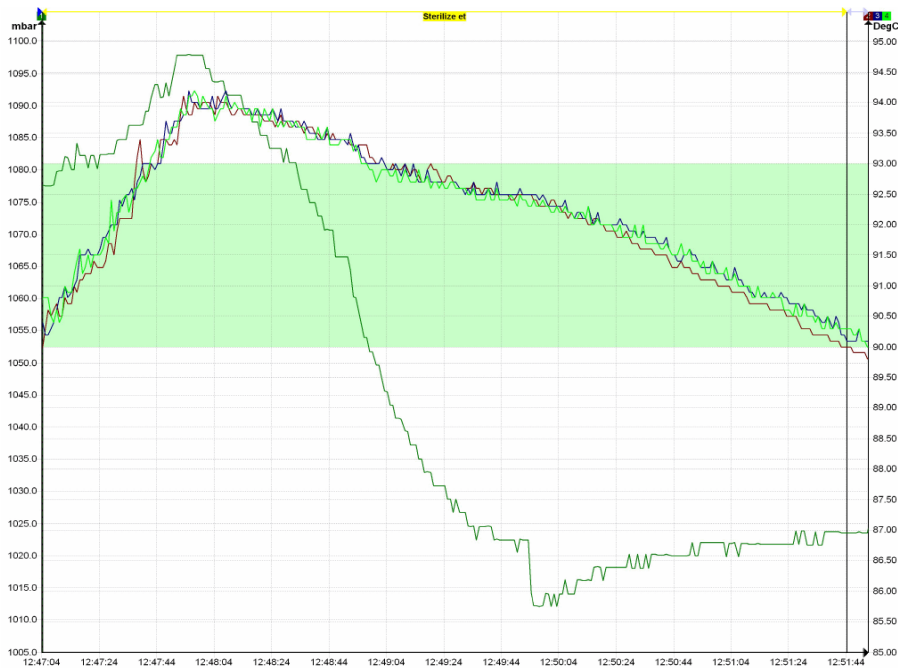


Şekil 4.19: 90°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

90°C'de sterilizasyon süresi 1 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.3). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

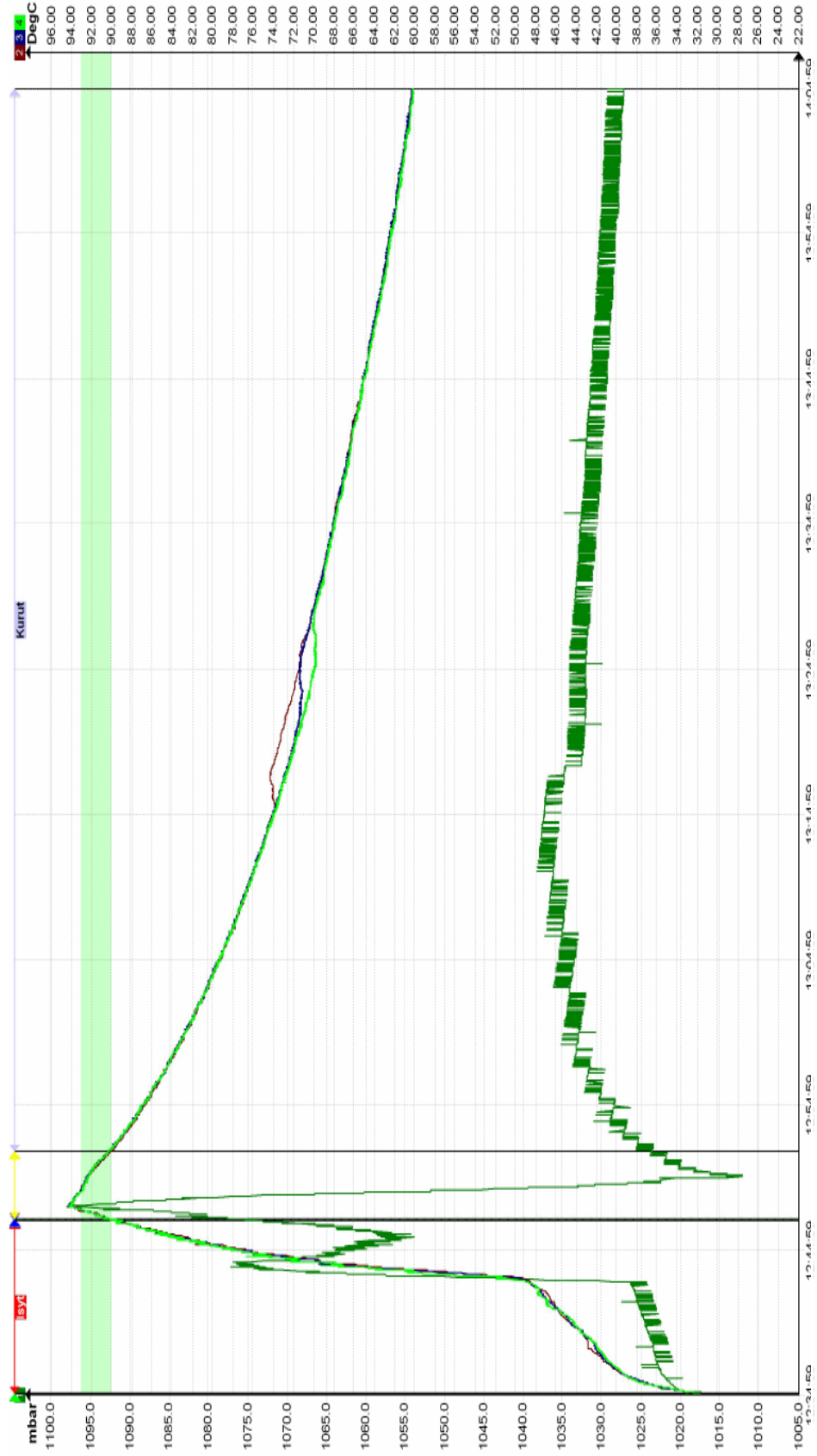
Tablo 4.6: 90°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	<u>Disk No</u>			<u>Disk No</u>		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.20: 90°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

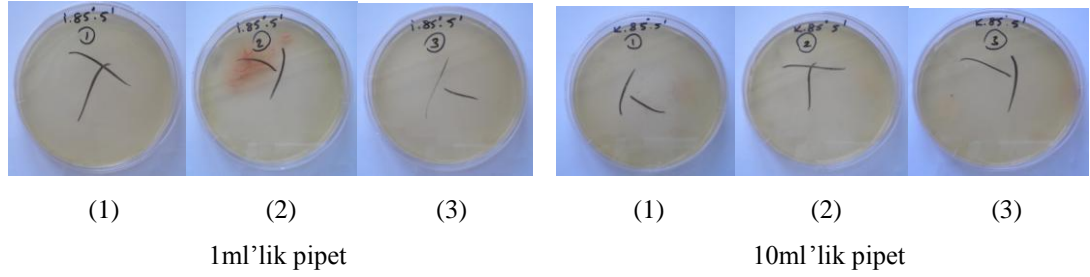
■ ■ ■ renklere; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.21: 90°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renklere; ölçülen sıcaklıklar, ■ renge; ölçülen basıncı göstermektedir.

85°C ve 5 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

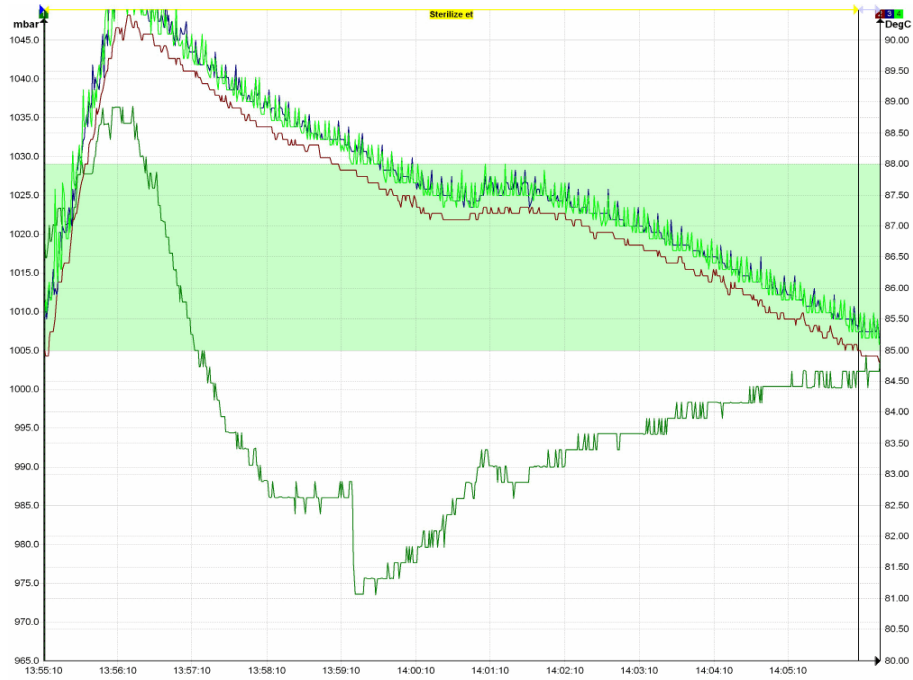


Şekil 4.22: 85°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

85°C'de sterilizasyon süresi 5 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.11). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

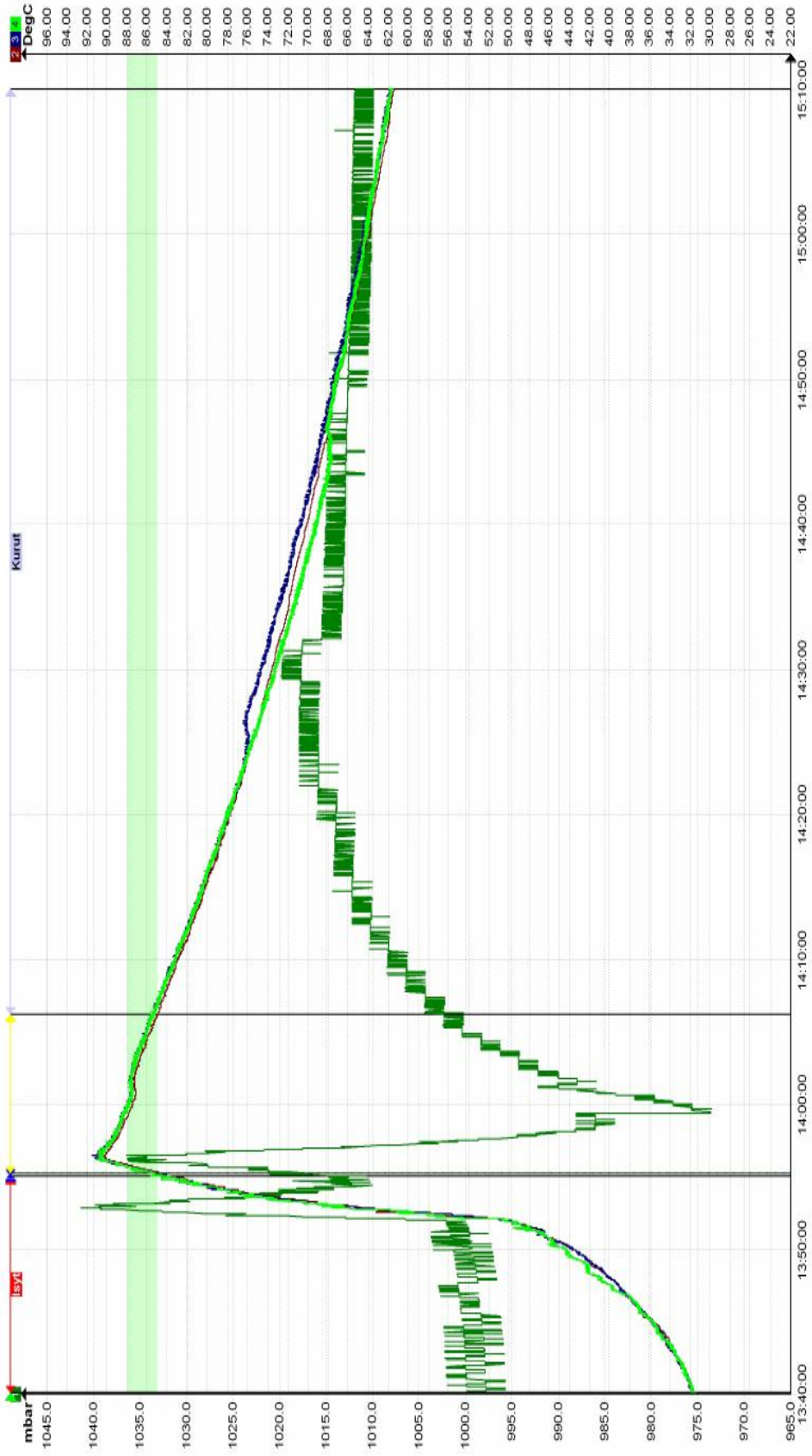
Tablo 4.7: 85°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	Disk No			Disk No		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.23: 85°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

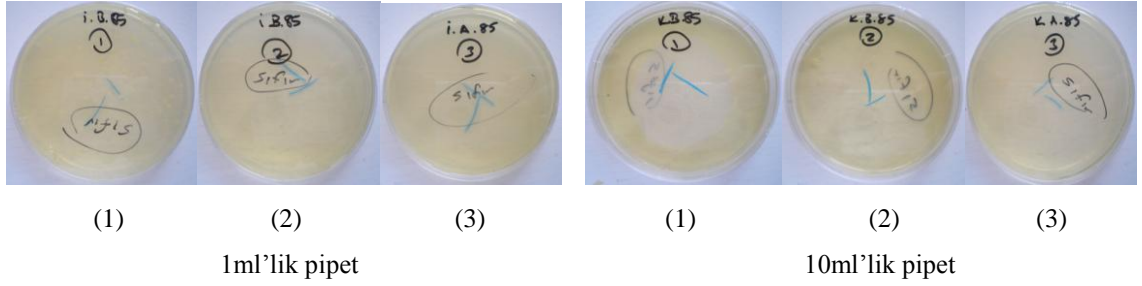
■ ■ ■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir..



Şekil 4.24: 85°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renkleri; ölçülen sıcaklıklar, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.

85°C ve 1 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

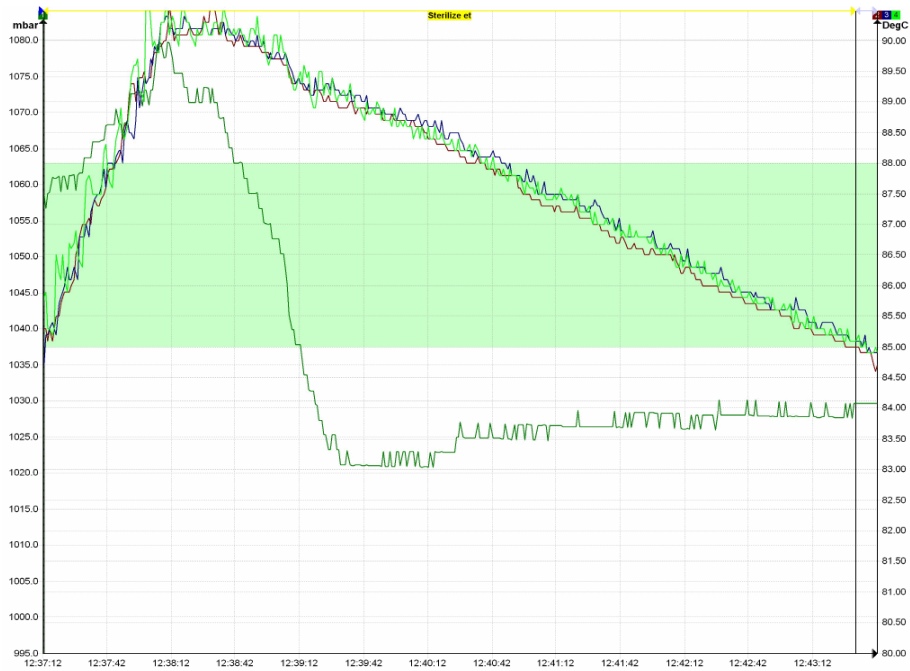


Şekil 4.25: 85°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

85°C'de sterilizasyon süresi 1 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.4). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

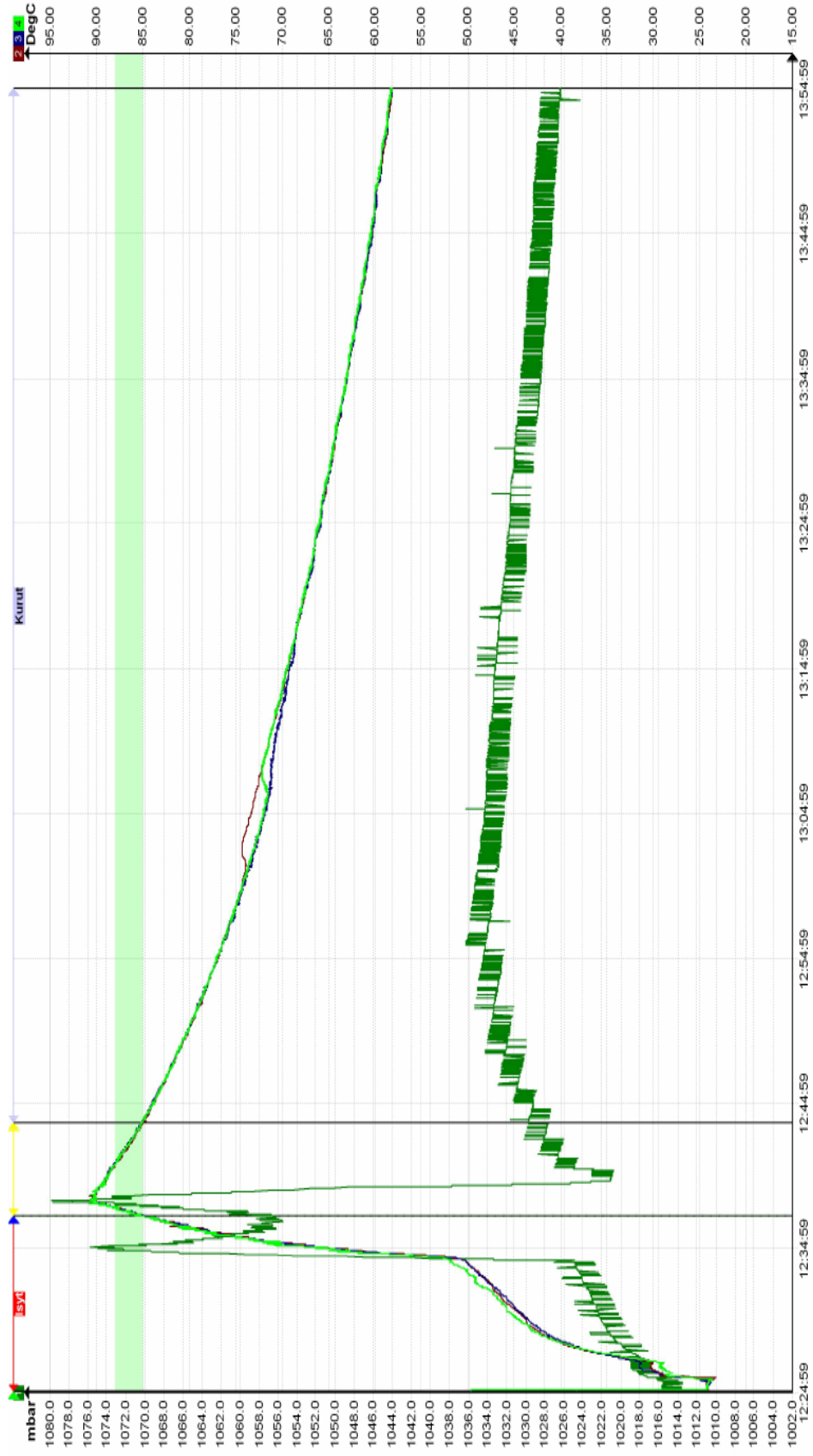
Tablo 4.8: 85°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	<u>Disk No</u>			<u>Disk No</u>		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.26: 85°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

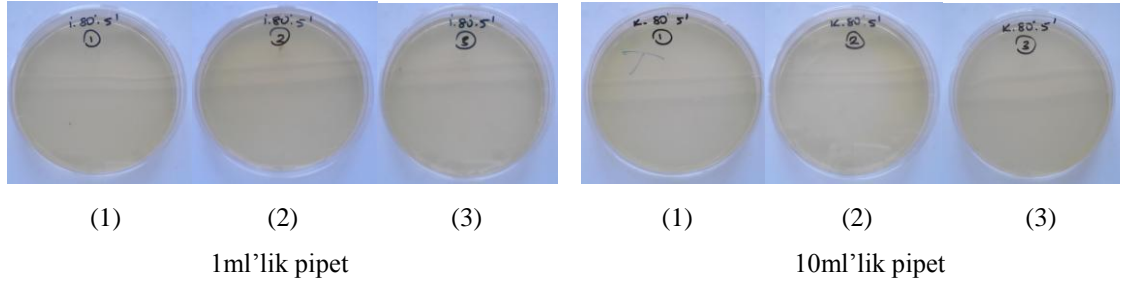
■ ■ ■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.27: 85°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renkleri; ölçülen sıcaklıklar, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.

80°C ve 5 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

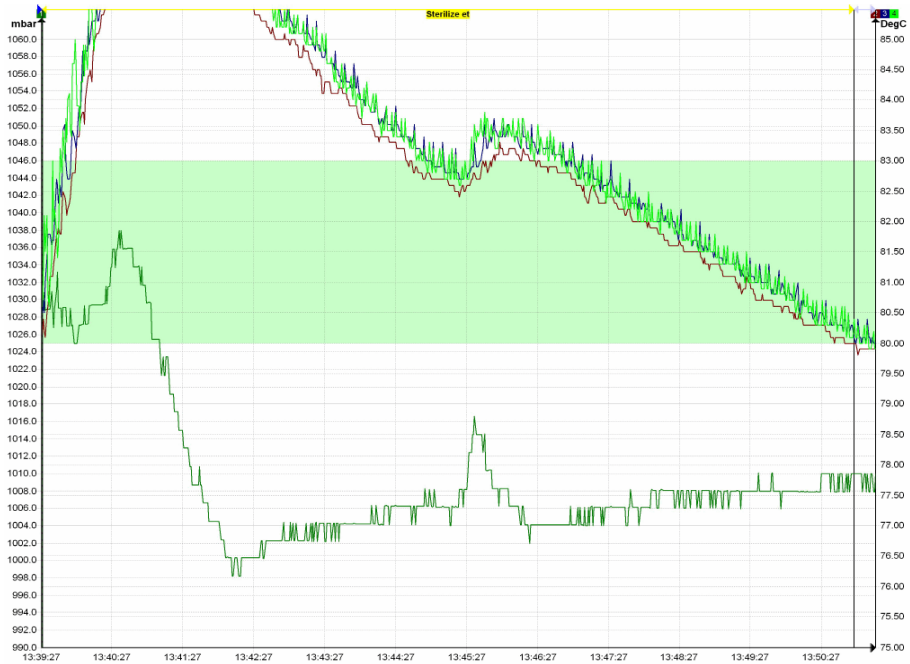


Şekil 4.28: 80°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

80°C'de sterilizasyon süresi 5 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.12). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

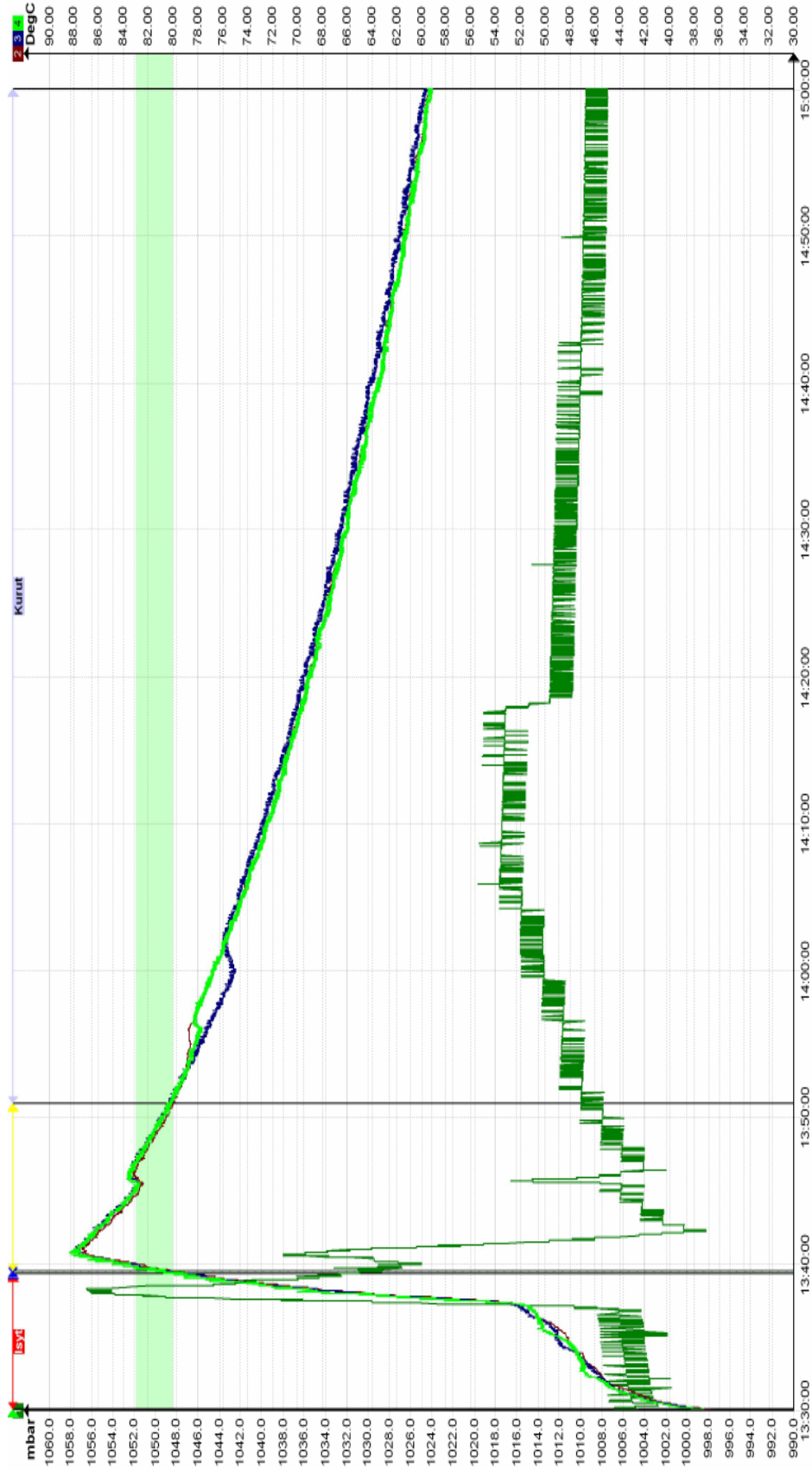
Tablo 4.9: 80°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	<u>Disk No</u>			<u>Disk No</u>		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.29: 80°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

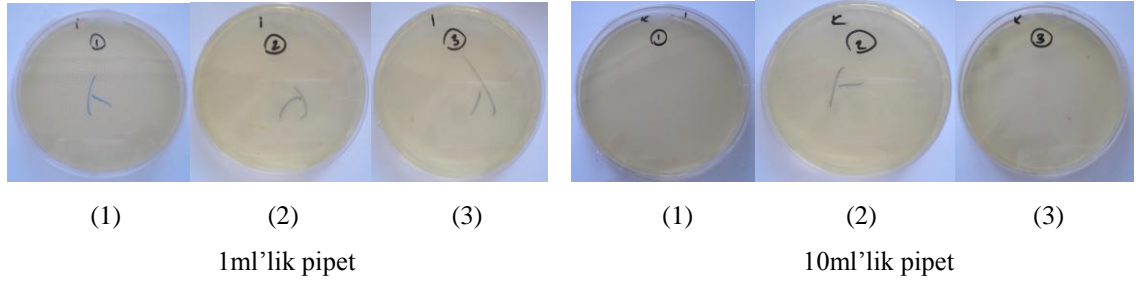
■ ■ ■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.30: 80°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renklere; ölçülen sıcaklıkları, ■ renge; ölçülen basıncı göstermektedir.

80°C ve 1 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

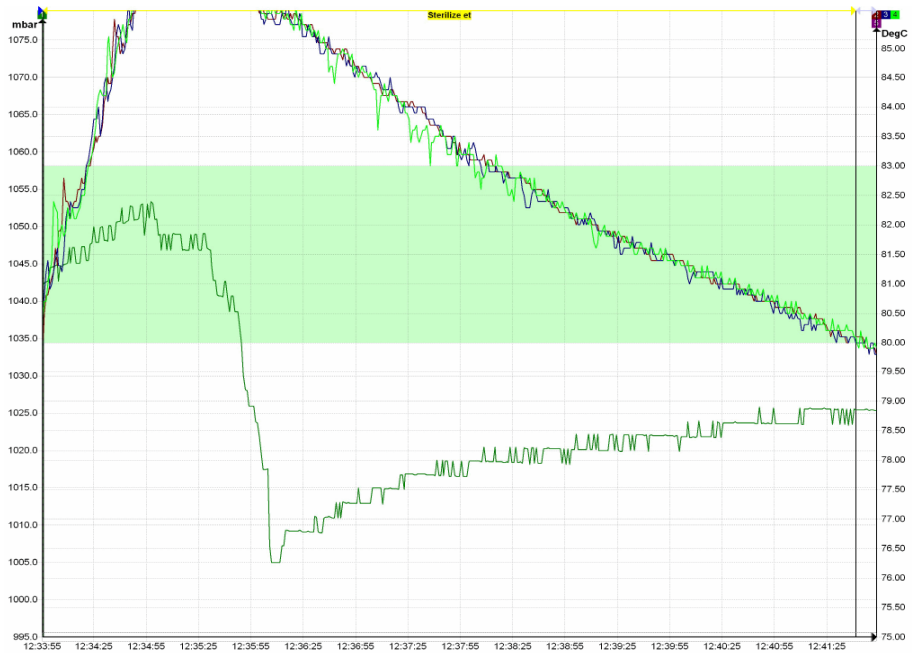


Şekil 4.31: 80°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

80°C'de sterilizasyon süresi 1 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.5). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

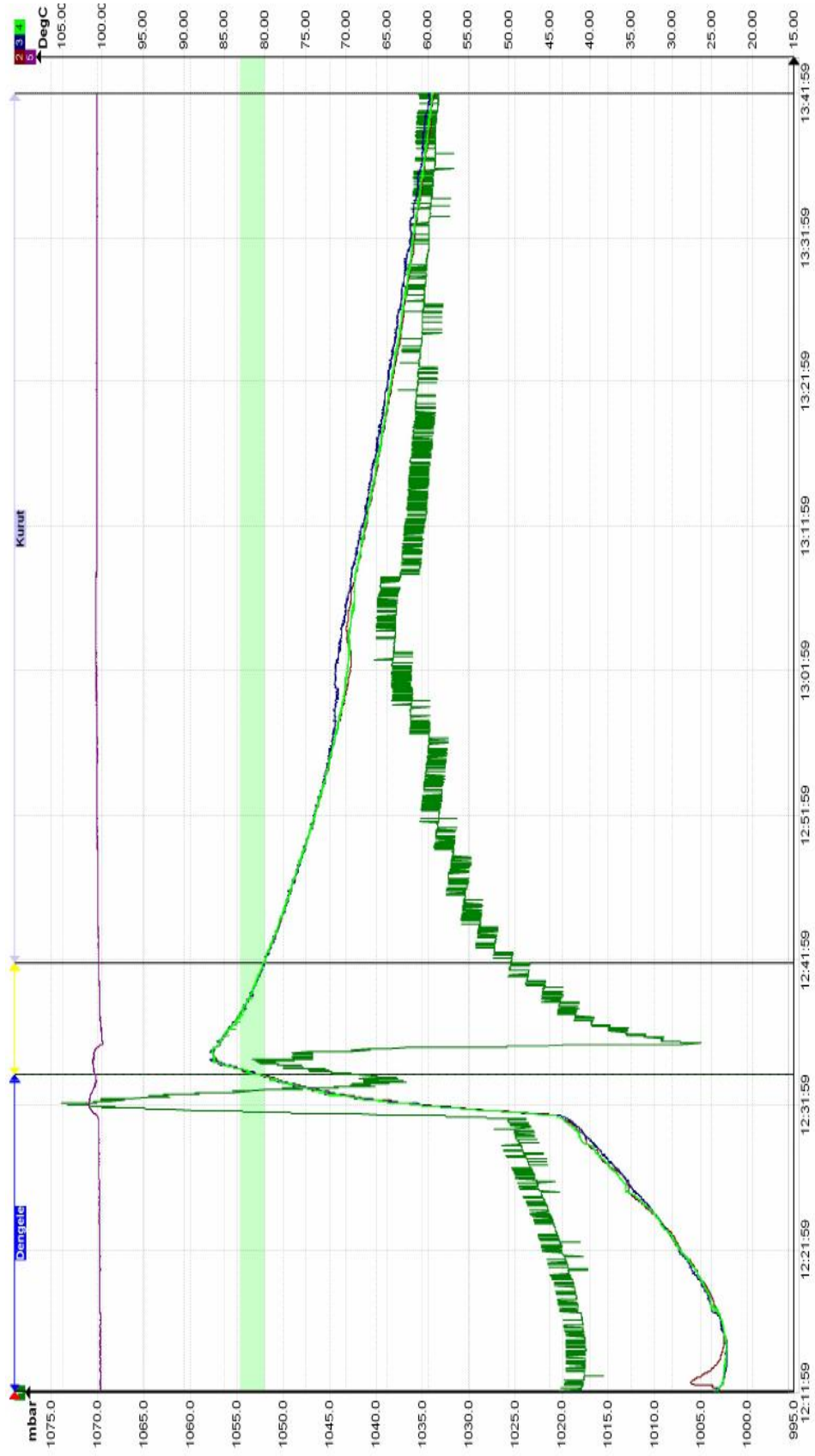
Tablo 4.10: 80°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	<u>Disk No</u>			<u>Disk No</u>		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.32: 80°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

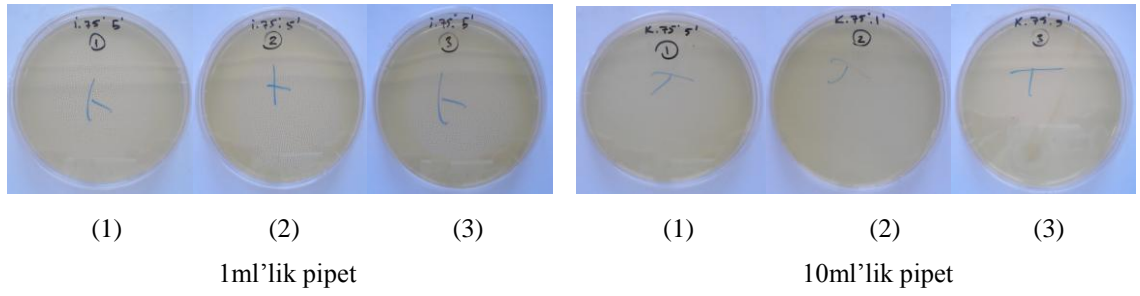
■ ■ ■ renklere; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengine; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.33: 80°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renklere; ölçülen sıcaklıklar, ■ renge; ölçülen basıncı göstermektedir.

75°C ve 5 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları şöyledir:

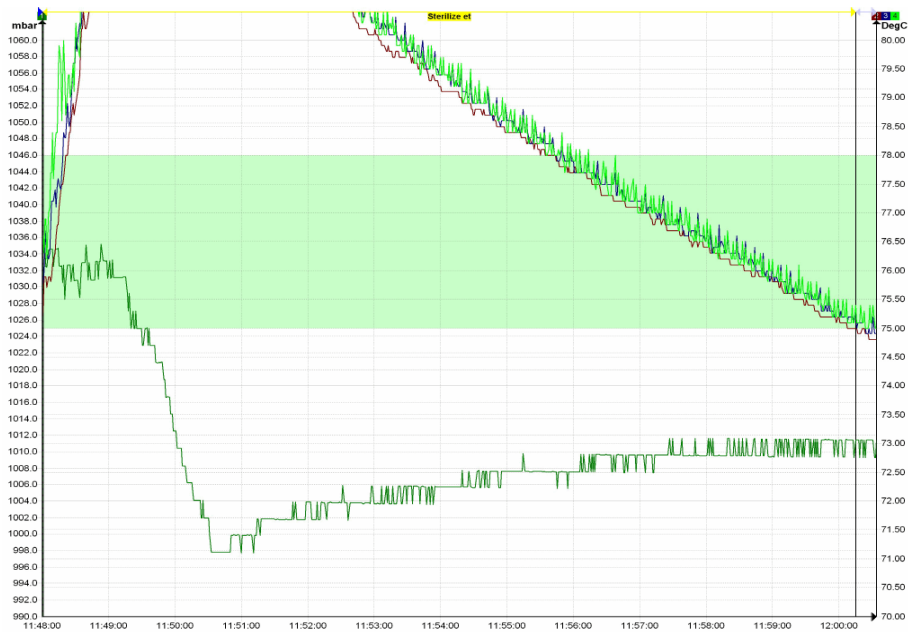


Şekil 4.34: 75°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

75°C'de sterilizasyon süresi 5 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.13). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

Tablo 4.11: 75°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	Disk No			Disk No		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.35: 75°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

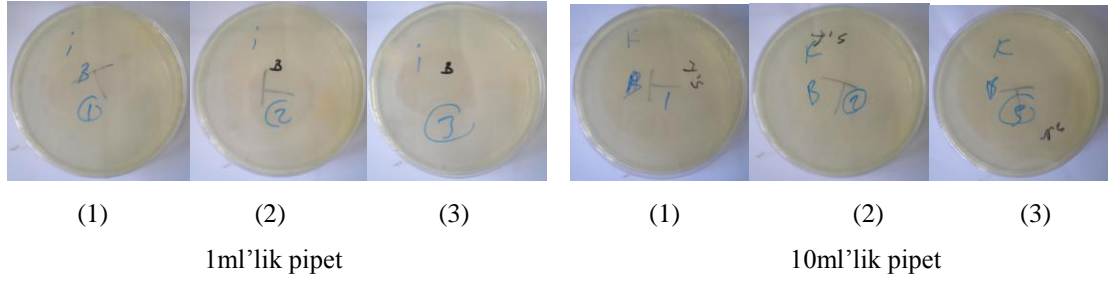
■ ■ ■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.36: 75°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renkleri; ölçülen sıcaklıklar, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.

75°C ve 1 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

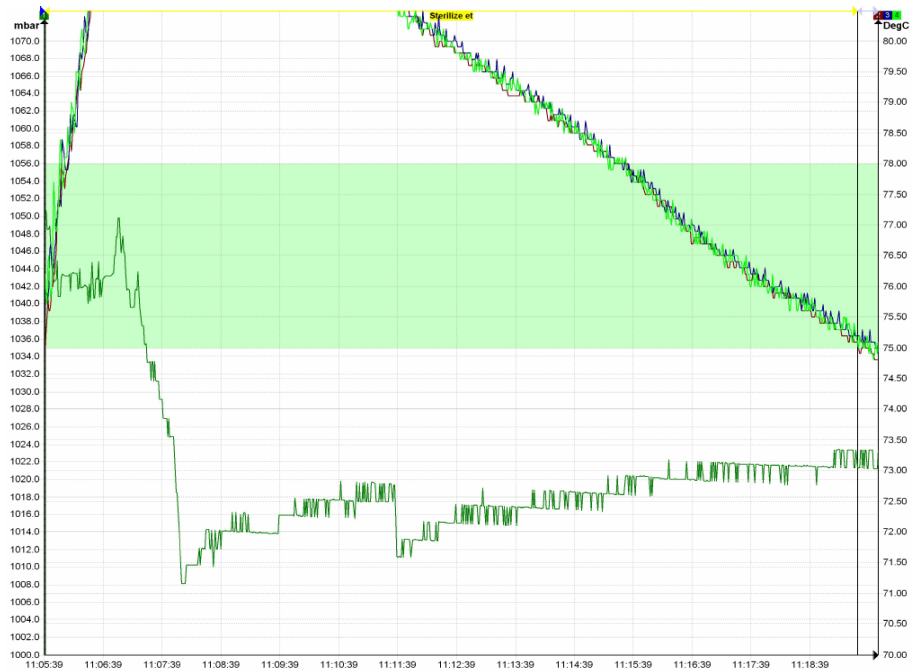


Şekil 4.37: 75°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

75°C'de sterilizasyon süresi 1 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.6). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

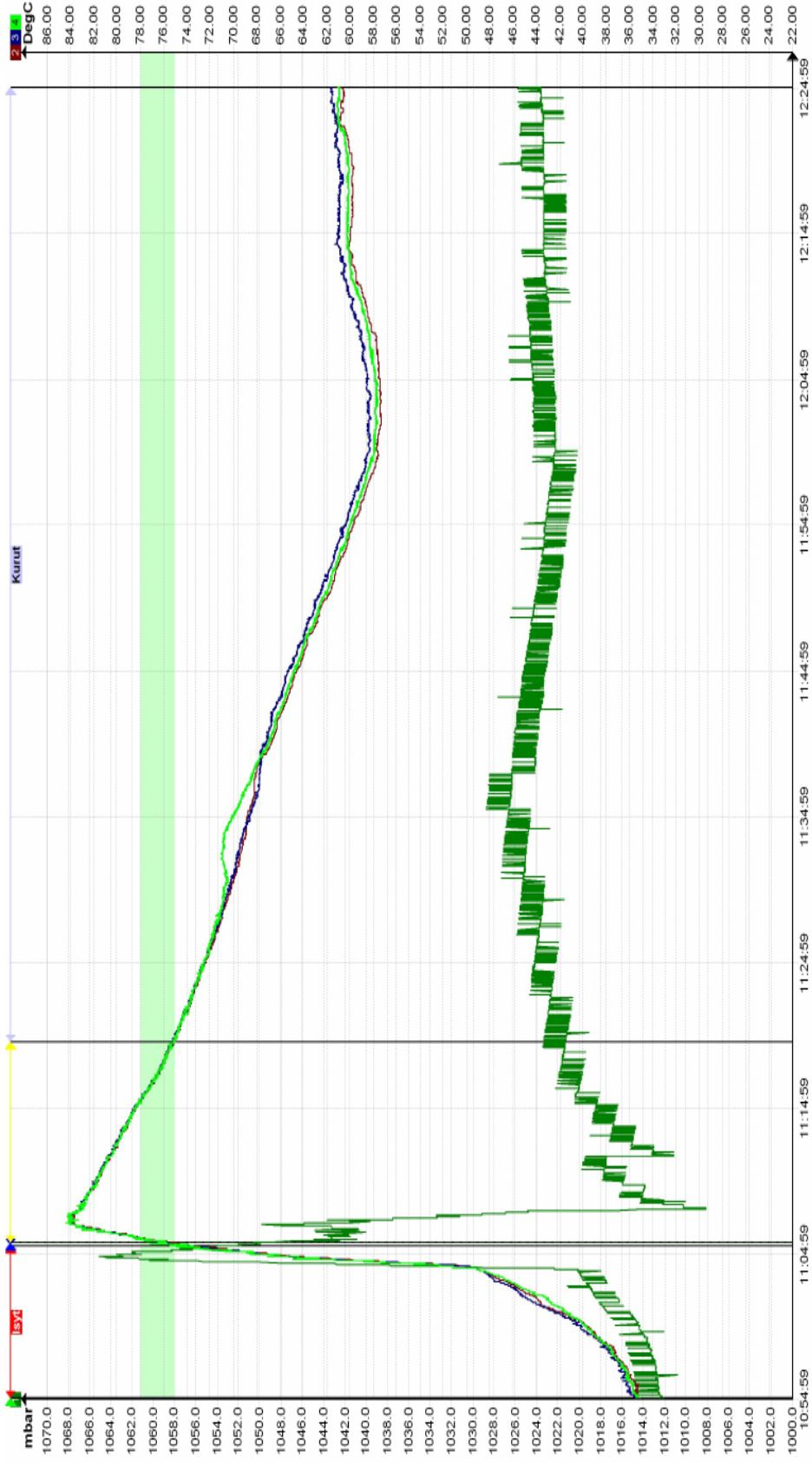
Tablo 4.12: 75°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	Disk No			Disk No		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.38: 75°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

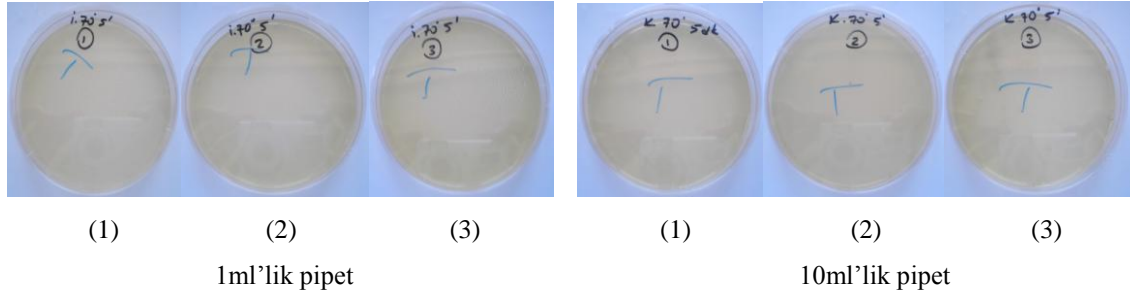
■ ■ ■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.39: 75°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renklere; ölçülen sıcaklıklar, ■ renge; ölçülen basıncı göstermektedir.

70°C ve 5 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

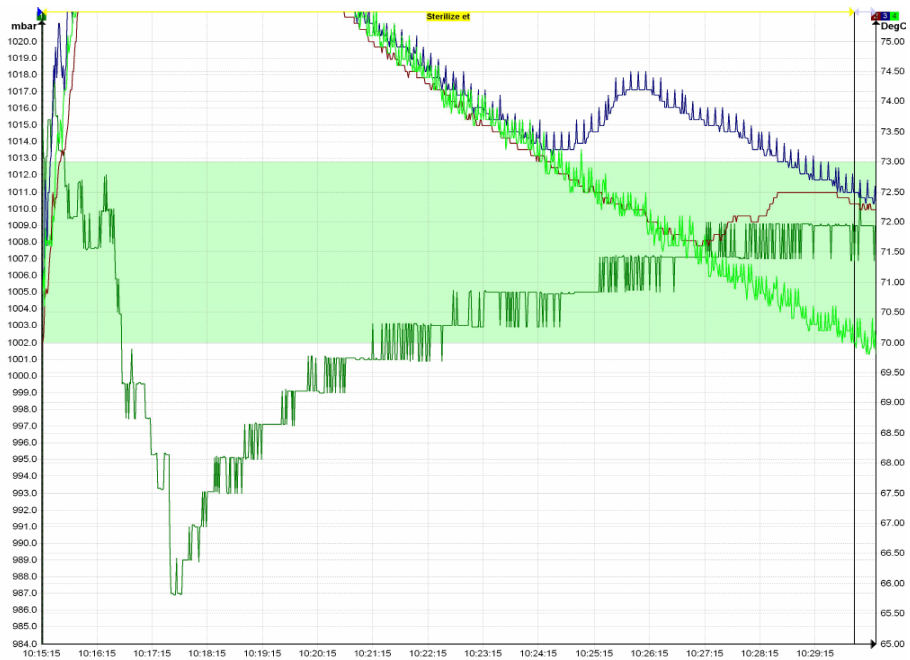


Şekil 4.40: 70°C, 5 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

70°C'de sterilizasyon süresi 5 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.14). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

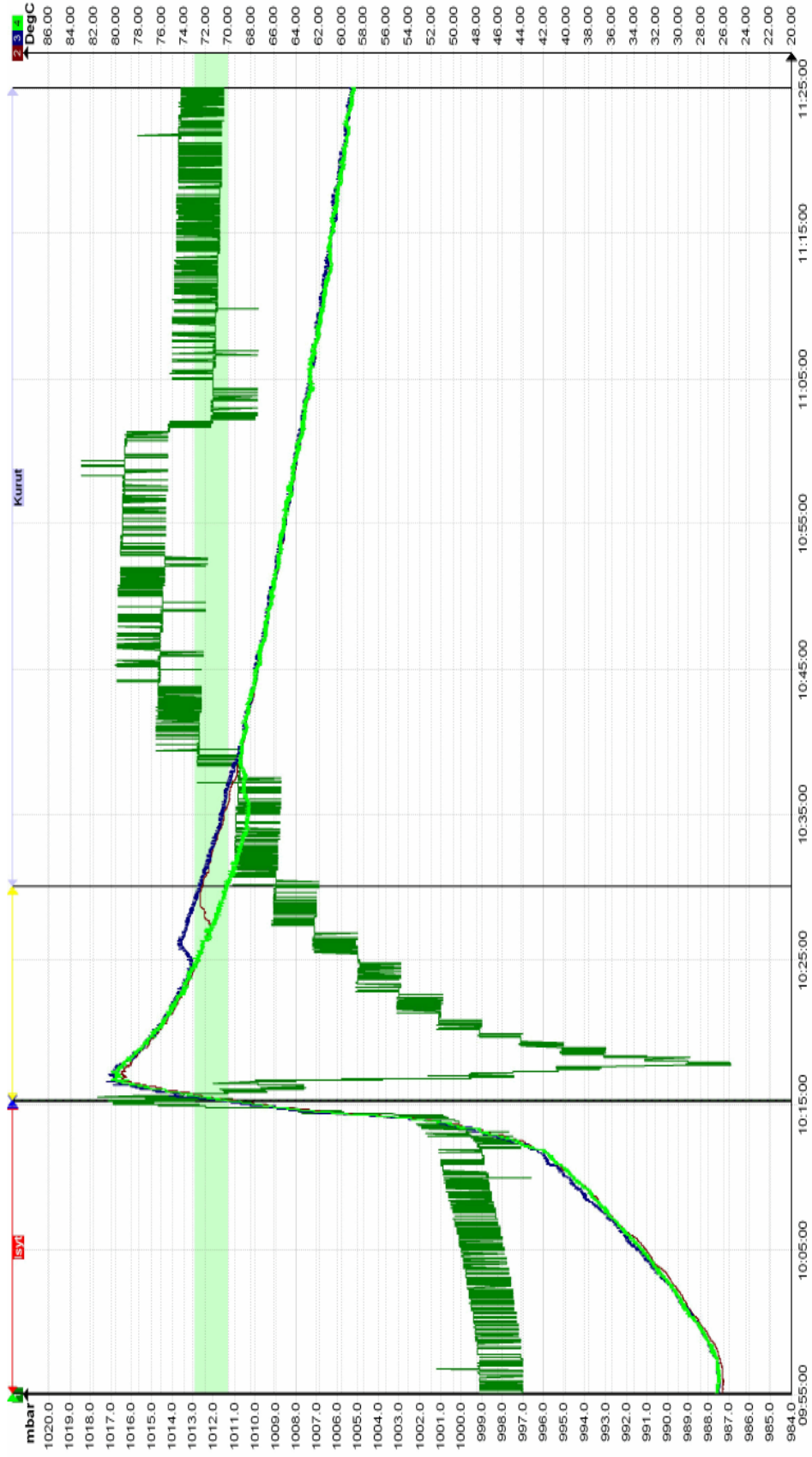
Tablo 4.13: 70°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	Disk No			Disk No		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.41: 70°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

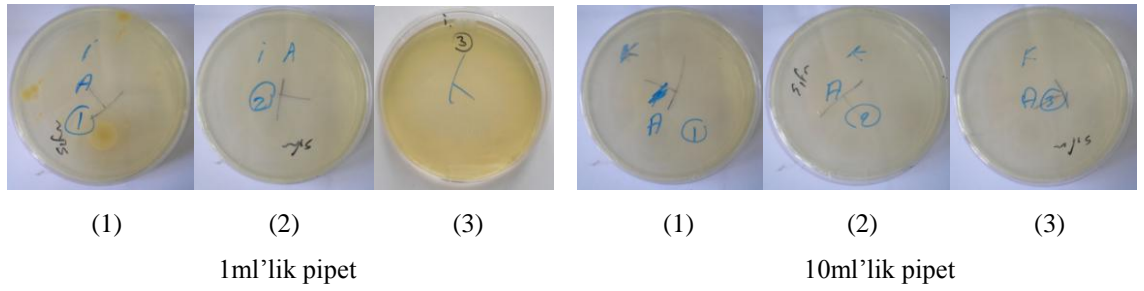
■ ■ ■ renklere; ölçülen sıcaklıkları, ■ ■ ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.42: 70°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.

70°C ve 1 dakika yapılan sterilizasyonun bulguları aşağıda verilmiştir:

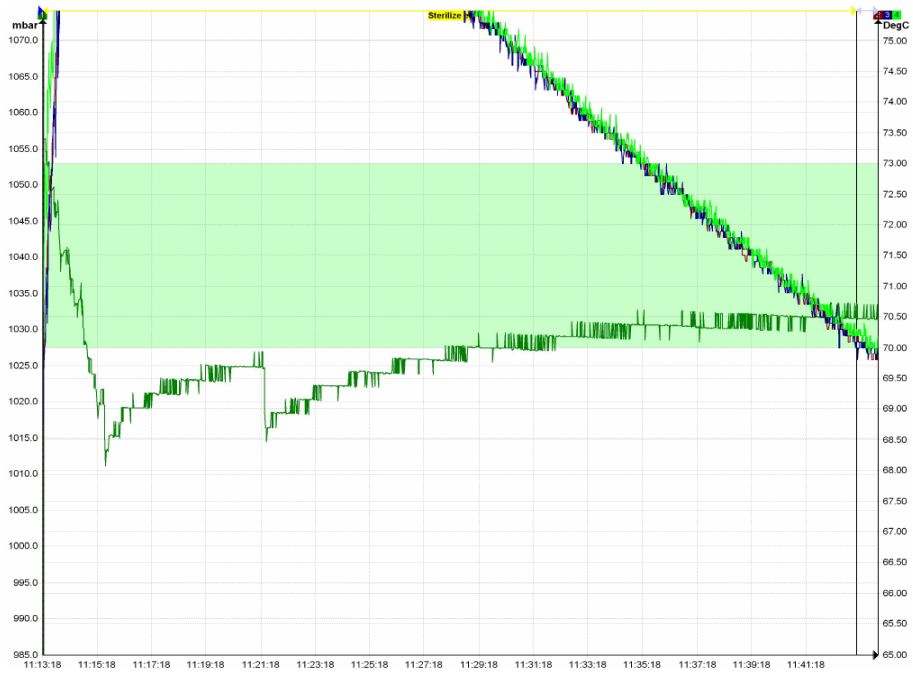


Şekil 4.43: 70°C, 1 dakika süreyle yapılan sterilizasyona ait Petri görüntüleri.

70°C'de sterilizasyon süresi 1 dakika tutularak yapılan deney sonucunda üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.7). % 100 oranında sterilizasyon sağlanmıştır.

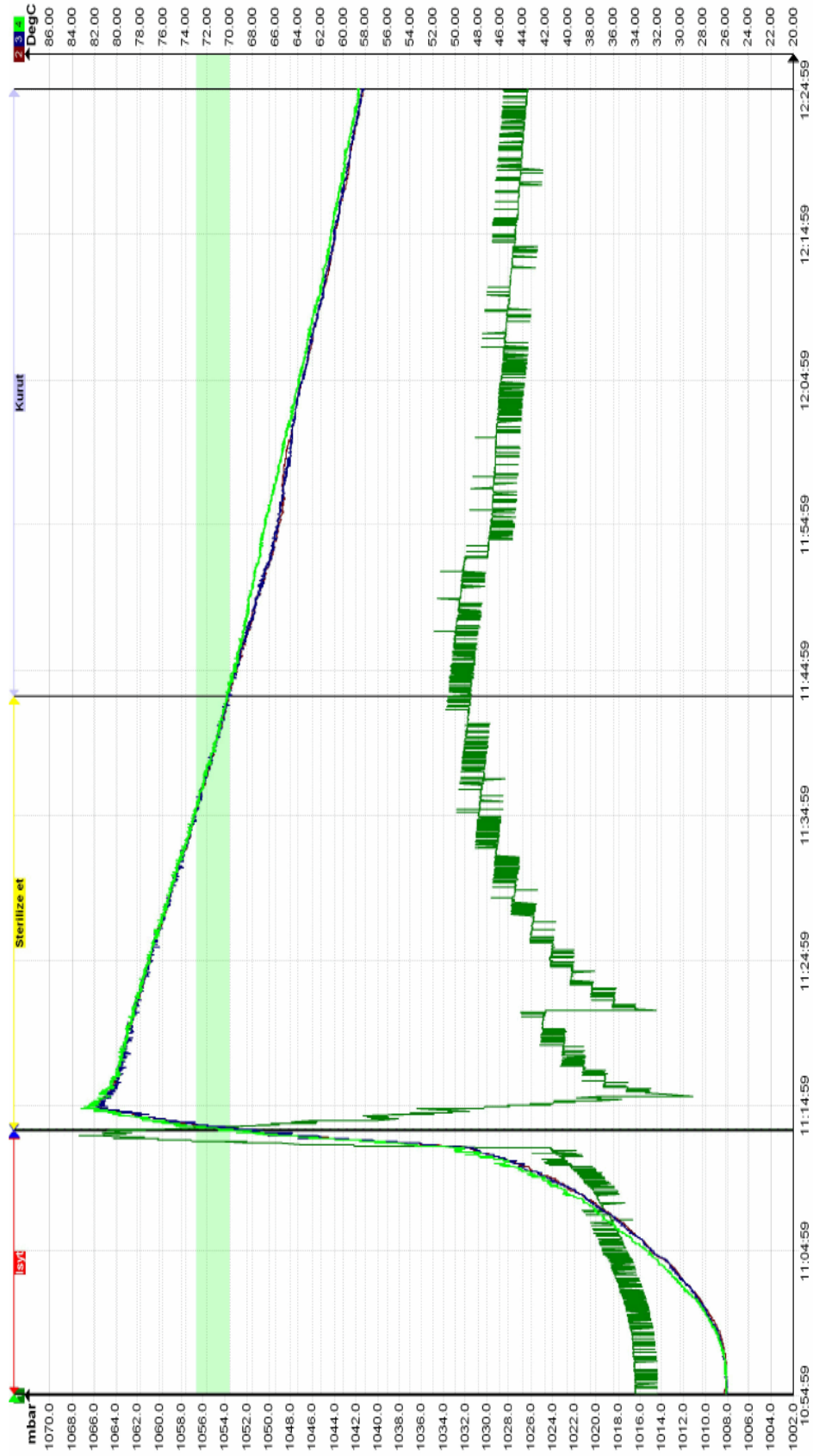
Tablo 4.14: 70°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait üreme ve % azalma oranları.

	1ml'lik pipet			10ml'lik pipet		
	<u>Disk No</u>			<u>Disk No</u>		
	1	2	3	1	2	3
Üreyen koloni sayısı	0	0	0	0	0	0
% azalma	100	100	100	100	100	100



Şekil 4.44: 70°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiği.

■ ■ ■ renkleri; ölçülen sıcaklıkları, ■ rengi; ölçülen basıncı göstermektedir.



Şekil 4.45: 70°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiği.

■ renkli; ölçülen sıcaklıklar, ■ renli; ölçülen basıncı göstermektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Otoklav ile sterilizasyon genel olarak 121°C’de 15 dakika süre ile sağlanmaktadır. 70°C ve 100°C arasında ayarlanan deney sıcaklıkları ve 1 dakika ve 5 dakika sterilizasyon süreleri otoklavların kullanım amacının dışında değerlerdir. Kullanılan otoklav ve sıcaklık-basınç ölçüm cihazı standart değerlere göre programlanarak üretilmişlerdir. Bu sistemleri standart değerler dışında ayarlayarak kullanılmaktaki amacımız, hem biyolojik yöntemlerle hem de ölçüm cihazlarıyla uygun olmayan koşullarda dahi otoklavın etkinliğini test edebilmektir.

Deneyle esnasında biyolojik testler ve sıcaklık-basınç ölçüm cihazı yanında otoklav üzerindeki sıcaklık ve basınç göstergelerinden de faydalanılarak veriler takip edilmiş ve cihaz raporuyla karşılaştırılmıştır. Her deneyden sonra verilerin aynı olduğu gözlenmiş, böylece otoklavın da doğru çalıştığı tespit edilmiştir.

Deneylede kullanılan değerleri karşılaştırmak ve standart koşullarda uygulanan sterilizasyon işlemini değerlendirebilmek amacıyla otoklav ilk olarak 121°C’de 15 dakikalık sterilizasyon süresine ayarlanmış ve sıcaklık-basınç ölçümleri kaydedilmiştir. Bu sterilizasyonun sıcaklık-basınç grafiği (Proses genel görünümü) Şekil 4.3’te verilmiştir. İşlem; ısıtma, steril etme ve kurutma kısımlarından oluşmaktadır. Isıtma süreci otoklavın ayarlanan sıcaklığa ulaşma süresini göstermektedir. Steril etme süreci otoklavda ayarlanan sterilizasyon süresini göstermektedir. Kurutma süreci ise sterilizasyon süresi bittikten sonra sistemin soğumaya geçtiği süreyi göstermektedir. Bu grafiklerde sterilizasyon işleminin tamamının yanında özellikle steril etme sürecinin de büyük önem taşıdığı görülmektedir. Bu noktada otoklavın ayarlanan sıcaklık ve istenilen süre boyunca sabit değerlerde kalıp kalmadığı, sterilizasyonun değerlendirilmesi açısından önemlidir. Bu amaçla ‘Sterilizasyon ayrıntıları’ grafiği de dikkatle değerlendirilmelidir. Grafikte 120°C ve 125°C arasında görülen açık yeşil hat otoklavın doğru sıcaklıkta çalıştığı konusunda kabul edilebilir aralığı göstermektedir. Grafığe göre 121°C’de 15 dakikalık sterilizasyonda, otoklavın farklı noktalarından

ölçüm alan her üç sıcaklık probu da aynı değerleri göstermektedir. Isıtma sürecinden sonra otoklav 121°C'ye ulaşır denge sağlandığında, sterilizasyon süreci başlamıştır. Basınç da sıcaklıkla beraber artarak sterilizasyon süresi boyunca 2100,0 mbar'da dengede kalmıştır. Şekil 4.2'de verilen ayrıntı grafiği de incelendiğinde sıcaklığın 121,5°C'de ve basıncın 2100,0 mbar'da 15 dakika boyunca dengede kaldığı daha açık bir şekilde görülmektedir.

121°C'de 15 dakika süreyle uygulanan sterilizasyonda sıcaklık kabul gören aralıklardadır. Bu deneyle otoklavın ayarlanan sıcaklık ve basınç değerlerini doğru olarak uyguladığı belirlenmiştir. 121°C'de 15 dakika sterilizasyondan sonra sıcaklık ve sterilizasyon süreleri değiştirilerek deneyler uygulanmıştır.

100°C, 5 dakikalık sterilizasyona ait grafiklere (Şekil 4.5, 4.6) göre otoklav 100°C'ye ayarlandığında 100°C'de 5 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sıcaklığın 101°C'ye kadar çıktığı gözlenmiştir. Sterilizasyon süresi başladığında basınç değeri 1155,0 mbar civarındadır. Sıcaklık 5 dakikalık sterilizasyon boyunca kabul edilebilir aralıkta kalmıştır. Sterilizasyonda sıcaklık dengesi kurulmuştur.

100°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiğine (Şekil 4.8) göre otoklav 100°C'ye ayarlandığında 100°C'de 1 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sterilizasyon süresinde sıcaklık 101,5°C'ye kadar çıkmış ve 1 dakikadan sonra düşmeye başlamıştır. Sıcaklık-basınç grafiğinde de (Şekil 4.9) görüldüğü gibi, sıcaklığın en yüksek olduğu esnada basınç da en yüksek değerindedir. Bu değer basınç probu tarafından 1120,0 mbar olarak ölçülmüştür.

95°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.12) göre otoklav 95°C'ye ayarlandığında 95°C'de 1 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sıcaklığın 97°C'ye kadar çıktığı gözlenmiştir. Basınç ise 1090,0 mbar'dır. Sterilizasyona ait ayrıntı grafiğinden (Şekil 4.11), sıcaklığın sterilizasyonun başlamasından itibaren kabul edilebilir aralıkta kaldığı görülmektedir.

95°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.15) göre otoklav 95°C'ye ayarlandığında 95°C'de 1 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sıcaklık

97,5°C'ye kadar yükselmiştir. Basınç değeri de yine sıcaklığın en yüksek olduğu noktada en yüksek değeri olan 1095,0 mbar civarına ulaşmıştır. Şekil 4.14'deki ayrıntı grafiğinde zaman, sıcaklık ve basınç durumları daha net bir şekilde görülmektedir. Sıcaklık sterilizasyon süresi boyunca artmaya devam etmiş, ancak kabul gören aralığın dışına çıkmamıştır. Sıcaklık 1 dakikanın sonunda azalmaya başlamıştır.

90°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.18) göre, otoklav 90°C'ye ayarlandığında 90°C'de 5 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sıcaklığın 94°C'ye kadar çıktığı gözlenmiştir. Sıcaklık hızla artıp azaldığı ilk 2 dakikadan sonra sterilizasyon süresi boyunca uygun kabul edilen aralıkta sabit kalmıştır (Şekil 4.17). Basınç değeri de en yüksek 1053,0 mbar olarak ölçülmüştür.

90°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiğine (Şekil 4.20) göre 90°C'de sterilizasyon başlamış, 1 dakika sonunda sıcaklık 94°C'ye kadar çıkmıştır. Ayarlanan 1 dakikalık sürenin bitmesiyle beraber sıcaklık ve basıncın düşmeye başladığı ayrıntılı olarak görülebilmektedir. Sıcaklık-basınç grafiğinde (Şekil 4.21) ısıtma süreci, sterilizasyon süreci ve kurutma süreci görülmektedir. Deneyde en yüksek basınç değeri sıcaklığın en yüksek olduğu 94°C noktasındadır ve değeri 1097,0 mbar'dır.

85°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.24) göre otoklav 85°C'ye ayarlandığında 85°C'de 5 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sıcaklığın 92°C'ye kadar çıktığı gözlenmiştir. Basınç da sterilizasyon süresinde sıcaklıkla aynı anda en yüksek değeri olan 1035,0 mbar'a ulaşmıştır. Şekil 4.23'te görülen ayrıntı grafiğine göre de sterilizasyon süresinde sıcaklık ve basıncın ulaştığı bu değerler ayrıntılı olarak görülmektedir.

85°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.27) göre otoklav 85°C'ye ayarlandığında 85°C'ye ulaştığında 1 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sıcaklık 90°C'ye kadar yükselip daha sonra düşmeye başlamıştır. Basınç değeri de sıcaklığın en yüksek olduğu anda 1080,0 mbar'da en yüksek değerine ulaşmıştır. Ayrıntı grafiğinde (Şekil 4.26) ise sıcaklığın 85°C'de 1 dakikalık sterilizasyon süresinin başlamasıyla artmaya devam ettiği, 1 dakika sonunda

sterilizasyon süresinin bitiminde 90°C'ye ulaştığı ve bu noktadan sonra otoklavın soğumaya geçtiği açık olarak görülmektedir.

80°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.30) göre otoklav 80°C'ye ayarlandığında 80°C'de 5 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sıcaklığın 88°C'ye kadar çıktığı gözlenmiştir. Basınç değeri de en yüksek 1056,0 mbar olarak kaydedilmiştir. Sterilizasyona ait ayrıntı grafiğinde (Şekil 4.29) sterilizasyon süresinde sıcaklığın 80°C ve üzerinde olduğu görülmektedir. Basınç değeri de sterilizasyonun başlangıcında 1030,0 mbar olarak ölçülmüştür.

80°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiğine (Şekil 4.32) göre, sıcaklık 80°C'ye geldiğinde sterilizasyon başlamıştır. Bir dakikalık sterilizasyon sırasında basınç değeri 1040,0-1050,0 mbar arasındadır. Sterilizasyon süresi bittikten sonra sıcaklık ve basınç düşmeye başlamıştır. Sıcaklık değeri 80°C'de sabitlenememiş ve 86°C'ye kadar yükselmiştir. Sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.33) baktığımızda sterilizasyon süresinden önce basınç değerinin 1070,0 mbar'a yükseldiği ve daha sonra tekrar düştüğü görülmektedir.

75°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.36) göre otoklav 75°C'ye ayarlandığında 75°C'de 5 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sıcaklığın 84°C'ye kadar çıktığı gözlenmiştir. Sterilizasyon ayrıntıları grafiğinden (Şekil 4.35) basınç değeri daha açık bir şekilde görülmektedir. Sterilizasyondan önce basınç değeri 1050,0 mbar'a kadar çıkmıştır. Sterilizasyon süresinde ise bir süre 1030,0 mbar – 1034,0 mbar arasında kalıp daha sonra düşmeye başlamıştır.

75°C, 1 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.39) göre, otoklav 75°C'ye ayarlandığında 75°C'de 1 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Sterilizasyon süresinde ve sterilizasyon süresi bittiğinde de sıcaklık yükselmeye devam etmiş ve 84°C'ye ulaşmıştır. Basınç değeri de 1068,0 mbar'a kadar artmıştır. Daha sonra düşerek sterilizasyon esnasında 1044,0 mbar civarında 1 dakika boyunca sabit kalmaya çalışmış ve sterilizasyon sonunda hızla düşmüştür (Şekil 4.38).

70°C, 5 dakikalık sterilizasyonda sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.42) göre otoklav 70°C'ye ayarlandığında 70°C'de 5 dakikalık sterilizasyon süresini başlatmıştır. Bu noktada basınç değeri 1017,0 mbar'da en yüksek seviyesindedir. Sıcaklık 80°C'ye kadar yükselmiş ve daha sonra düşmeye başlamıştır. Sterilizasyona ait ayrıntı grafiğinde (Şekil 4.41) basınç değerinin sterilizasyon süresinde 1008,0-1011,0 mbar arasında kaldığı, 5 dakikalık sterilizasyon süresi sonunda düştüğü ayrıntılı olarak görülmektedir.

70°C, 1 dakikalık sterilizasyona ait ayrıntı grafiğinde (Şekil 4.44) sterilizasyonun 70°C'ye ulaşıldığı anda başladığı görülmektedir. Sıcaklık-basınç grafiğine (Şekil 4.45) bakıldığında ise otoklavın 70°C'ye ayarlandığında 70°C'de 1 dakikalık sterilizasyon süresini başlattığı, ancak sıcaklığın bu aşamadan sonra 83°C civarına çıktığı gözlenmiştir. Basınç ise 1 dakikalık sterilizasyon süresinden önce en yüksek noktası olan 1065,0 mbar'a ulaşmış ve daha sonra 1056,0 mbar'a düştüğü anda sterilizasyon başlamıştır. Sıcaklığın ve sürenin düşük bir değere ayarlanmasından dolayı sıcaklık ve basınç çizgilerinde dalgalanmalar görülmektedir. Ayarlanan sıcaklığa göre ölçülen sıcaklık farkı, önceki deneylere göre daha fazladır. Bu deneyde sistemdeki sıcaklık artışı ve düşüşü 100°C, 95°C ve 90°C'de uygulanan deneylere göre daha kararsızdır. Bunun sebebi sıcaklık değerinin otoklav uygulamaları için uygun olmamasıdır.

Sıcaklık ve sürenin ayarlanan değeri düştükçe sıcaklık ve basınç çizgilerinde dalgalanmalar artmaktadır. Otoklav bu değerlerde ayarlanan sıcaklığı sabit tutamamaktadır. Sıcaklık-basınç ölçüm cihazından elde edilen raporlar incelendiğinde sterilizasyon süresinin, otoklav içinde üç farklı noktadan kaydedilen sıcaklık değerlerinin hepsi ayarlanan değere ulaştıktan sonra başladığı görülmektedir. Bu dengeleme süresi içerisinde bir noktada değer ayarlanan değeri geçmişken, diğer bir noktada henüz ayarlanan değere ulaşamamıştır. Otoklav buhar oluşturmak üzere basıncı arttırmakta ve buna bağlı olarak sıcaklık artmaktadır. Fakat sterilizasyon süresi 1 dakika ayarlandığında otoklav denge kuramadan sterilizasyon süresi bitmektedir. Ayrıca kullanılan otoklavda yalnızca sıcaklık ve zaman ayarlanabilmekte, basınç ayarı otomatik olarak gerçekleşmektedir. Bu sebeple de sıcaklık çizgilerinde dalgalanmalar oluşmaktadır.

Çalışmamızda sterilizasyonunun daha zor olduğu düşünülerek iki farklı kanül özelliğinde olan 1 ml ve 10 ml'lik steril cam pipetin üç farklı noktasına ısıya dirençli bakteri sporları (*B.subtilis var. niger* ATTC 9372) içeren diskler yerleştirilmiştir. Deneyler 70°C ve 100°C arasında, 1 dakika ve 5 dakika tutularak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre deneylerin tamamında sporlu bakterilerde herhangi bir üremenin olmadığı gösterilmiştir (Tablo 4.1-4.14). Deneylerde kullanılan kontrol sporlu bakterilerin sayısı 412×10^3 cfu olarak belirlenmiştir. Avrupa standartlarına göre sterilizasyonun geçerli olması için sporlu bakterilerin sayısının her diskte 10^5 - 10^6 cfu olması gerekmektedir [61]. Ancak çalışmamızın tek amacı sterilizasyonda sporlu bakterilerin sayısını azaltmak değil, Mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan otoklavın sıcaklık ve basınç göstergesi ile sıcaklık-basınç ölçüm cihazının kaydettiği verilerin uyumlu olup olmadığı ve bu koşullar altında biyolojik indikatör olarak kullanılan sporlu bakterilerin, sterilizasyonu zor olduğu düşünülen kanüllü malzemeler içinde canlı kalıp kalmadığı ile de ilgilidir. Sonuç olarak 412×10^3 cfu spor içeren malzeme, 70°C ve 1 dakika gibi nispeten düşük ısıda ve kısa sürede steril kalabilmektedir. Ancak mikrobiyolojik açıdan sterilizasyonun tam olarak sağlandığını söyleyebilmek için bu sporların sayısını 10^6 spora çıkartmak gerekmektedir.

1 ml ve 10 ml'lik steril cam pipetlerin üç farklı noktasına diskler yerleştirilerek kanüllü malzemeler içinde buharın hangi noktaya kadar ve ne kadar (% ölüm oranlarından faydalanarak) ulaştığını test etmek amaçlanmıştır. Beklenen sonuca göre 3 numaralı diskin yerleştirildiği konum olan pipetlerin pamuklu ucunda en iyi sterilizasyon sağlanması gerekmekte idi. Çünkü bu nokta pipetin daha geniş çaplı ağzına yakın ve buharı daha kolay alabilecek konumdadır. Diğer disklerin bulunduğu noktalarda sterilizasyon işleminin verimliliği ise 3. noktaya göre değerlendirilecekti. Ancak deneyler sonucunda üreme olmaması göstermiştir ki buhar pipetlerin içinde rahatça her noktaya ulaşmış ve sterilizasyon sağlanmıştır.

Kanüllü malzemelerde çap farkına göre sterilizasyon durumunu kıyaslayabilmek için 1 ml ve 10 ml'lik pipetler kullanılmıştır. Daha küçük çaplı malzemelerde buharın malzeme içinden geçişinin daha zor olacağı düşünülerek 5 ml'lik pipette 1 ml'lik pipete göre daha iyi bir sterilizasyon sonucu alınacağı düşünülmüştür. Deneyler sonucunda farklı hacimlere sahip bu iki pipette de sterilizasyon sağlanmıştır.

Normal sterilizasyon derecesi ve süresi 121°C’de 15 dakikadır. Farklı dereceler ve daha kısa sürelerde denemeler yaparak bu durumlarda sterilizasyonu karşılaştırabilmek amaçlanmıştır. Deneyle otoklavda 1 dakika ve 5 dakika sterilizasyon süreleri ayarlanarak yapılmıştır. Beş dakikalık sterilizasyonda 1 dakikalık sterilizasyona göre daha iyi sonuç alınacağı ve 70°C ve 100°C arasında, 1 dakika ve 5 dakika tutularak yapılan deneylerde standart değer olan 121°C’de 15 dakika değerine ulaşılmadığı için tam sterilizasyonun sağlanamayacağı düşünülmüştür. Ancak 70°C’de 1 dakikalık sterilizasyon süresinde uygulanan işlemde dahi sterilizasyon sağlanmıştır.

Sonuç olarak, çalışmada kullanılan otoklav cihazı ayarlanan sıcaklık değerine uygun olarak, olması gereken basınç değerini vermekte ve ayarlanan süre zarfında hem sıcaklık hem de basınç değerlerinde kabul gören değişimler göstermektedir. Kullandığımız sıcaklık-basınç veri kaydedicilerinin hassaslığı nedeniyle, grafiklerde sıcaklık değerlerinin azami yüksekliğe ulaştığı noktalar da gözlenmiş ancak kısa sürede bu değer, ayarlanan değere düşüş göstermiştir. Özellikle sterilizasyonda sıkça kullanılan gerek sıcaklık gerekse de süre değerleri ayarlanarak alınan ölçümlerde (125°C’de 15 dakika gibi), sıcaklık-basınç grafik eğrilerinin daha kararlı olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan sıcaklık-süre değerlerinin, alınan ölçümler sonucunda kararlı olmadığı ve dalgalanma gösterdiği anlaşılmıştır. Standart kullanılan değerden daha düşük değerlere inildikçe bu kararsızlık ve dalgalanma artmaktadır. Ancak bu dalgalanmaya rağmen, biyolojik kontrollerde herhangi bir mikrobiyal üreme görülmemiştir. Böylece bu çalışmada hem teknik parametrelerin (sıcaklık-basınç) ölçülmesi, hem de biyolojik kontrollerin yapılması sağlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. McCLANE, Bruce A., MIETZNER, Timothy A., DOWLING, John N., PHILLIPS, Bruce A., 1999, *Microbial pathogenesis*, Wiley-Blackwell, Oxford, 1-8893-2527-9.
2. RYAN, Kenneth J., RAY, C.George, 2004, *Sherris Medical Microbiology*, 4th ed., McGraw Hill, United States of America, 978-0-87553-190-8.
3. ÇAYLAN, Rahmet, 2003, Sterilitenin Kontrolü, 3. *Sterilizasyon Ve Dezenfeksiyon Kongresi, 2-4 Ekim 2003 Samsun*, Kongre Kitabı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 93-98.
4. SPICER, W.John, 2000, *Bacteriology, Mycology and Parasitology*, 1st ed., Churchill Livingstone, London, 0443-04365-5.
5. ARCHUNAN, G., 2004, *Microbiology*, 1st ed., Sarup & Sons, New Delhi, 81-7625-533-5.
6. SCHLEGEL, Hans Günter, 1993, *General Microbiology*, 7th ed., Cambridge University Press, Cambridge, 0-521-43980-9.
7. ZIADY, Laura Ester, SMALL, N., 2004, *Prevent and Control; Infection*, Juta and Co Ltd., Cape Town, South Africa, 07021-6790-8.
8. BLOCK, Seymour S., 2001, *Disinfection, Sterilization, and Preservation*, 5th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 0-683-30740-1.
9. ŞANLIDAĞ, T., AKÇALI, S., 2009, Sterilizasyon, Dezenfeksiyon ve Hastane Atıkları, *Sağlıkta Birikim*, 1 (4), 65-76.
10. TÖRECİ, Kurtuluş, 2003, Dünden Bugüne Sterilizasyon, Dezenfeksiyon, Antisepsi, 3. *Sterilizasyon Ve Dezenfeksiyon Kongresi, 2-4 Ekim 2003 Samsun*, Kongre Kitabı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 23-36.
11. RUSSELL, A.D., HUGO, W.B., AYLIFFE, G.A.J., 2004, *Principles and Practice of Disinfection, Preservation & Sterilization*, 4th ed., Blackwell, Oxford, 1-4051-0199-7.

12. OLLHOFF, Jim, 2010, *A History of Germs, The Germ Detectives*, 1st ed., ABDO Publishing Company, Edina, 978-1-60453-499-3.
13. GEDEON, Andras, 2006, *Science and Technology in Medicine*, Springer, Singapore, 0-387-27874-5.
14. MAGNER, Lois N., 2002, *A History of the Life Sciences*, 3th ed., Marcel & Dekker, New York, 0-8247-0824-5.
15. BROCK, Thomas D., 1998, *Robert Koch; A Life in Medicine and Bacteriology*, ASM Press, Washington, 1-55581-143-4.
16. ENGELKIRK, Paul G., ENGELKIRK, Janet Duben, 2011, *Burton's Microbiology for the Health Sciences*, 9th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 978-1-60547-673-5.
17. MICHIELS, Chris, BARTLETT, Douglas H., AERTSEN, Abram, 2008, *High-Pressure Microbiology*, ASM Press, Washington, 978-1-55581-423-6.
18. HARDY, Simon P., 2002, *Human Microbiology*, Taylor & Francis, London, 0-203-16440-7.
19. SETTY, R.S., SREEKRISHNA, V., 2003, *Biotechnology-2: Including Cell Biology, Genetics, Microbiology*, New age International, Sri Lanka, 8122414176.
20. BOULTON, Alan A., BAKER, Glen B., WALZ, Wolfgang, 1992, *Practical Cell Culture Techniques*, The Humana Press, New Jersey, 0-89603-214-0.
21. ALCAMO, I. Edward, 2003, *Microbes and Society; An Introduction to Microbiology*, Jones And Bartlett, Sudbury, 0-7637-1430-5.
22. ANDERSEN, Robert Arthur, 2005, *Algal culturing Techniques*, Elsevier, Oxford, 0-12-088426-7.
23. NAJAFPOUR, G.D., 2007, *Biochemical Engineering and Biotechnology*, 1st ed., Elsevier, Amsterdam, 0-444-52845-8.
24. BURDON, R.H., VAN KNIPPENBERG, 1990, *Laboratory Techniques In Biochemistry and Molecular Biology*, 2nd ed., Elsevier, New York, 0-7204-4200-1.
25. OCHEI, J., KOLHATKAR, A., 2008, *Medical Laboratory Science: Theory and Practise*, 10th ed., Tata McGraw-Hill, New Delhi, 978-0-07-463223-9.

26. SMIT, Gerrit, 2003, *Dairy Processing: Improving quality*, Woodhead Publishing, New York, 1-85573-676-4.
27. PATIL, Ulhas K., MUSKAN, Kalyani, 2009, *Essential of Biotechnology*, I.K. International Publishing House, New Delhi, 987-93-80026-52-7.
28. RIES, M.D., WEAVER, K., BEALS, N., 1996, Safety and Efficacy of Ethylene Oxide Sterilized Polyethylene in Total Knee Arthroplasty, *Chlinical Orthopaedics and Related Research*, 331, 159-163.
29. ROGERS, Wayne, 2005, *Sterilisation of Polymer Healthcare Products*, Rapra Technology Limited, Shrewsbury, 1-85957-490-4.
30. SOYLU, Tülay, 2005, Sterilizasyon Kontrolü, 4. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 20-24 Nisan 2005 Samsun*, Kongre Kitabı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 87-98.
31. MASSEY, Liesl K., 2005, *The Effect of Sterilisation Methods on Plastics and Elastomers*, William Andrew, New York, 0-8155-1505-7.
32. JACOBS, C., WINCHESTER, J.F., KJELLSTRAND, C.M., KOCK, K.M., 1996, *Replacement of Renal Function by Dialysis*, 4th ed., Kluwer Academic, Dordrecht-Netherlands, 0-7923-3610-0.
33. RAMSTORP, Matts, 2003, *Contamination Control in Practise; Filtration and Sterilisation*, Wiley - VCH, Weinheim, 3527307761.
34. McDONNELL, Gerald E., 2007, *Antisepsis, Disinfection, and Sterilization: types, action, and resistance*, ASM Press, Washington, 987-1-55581-392-5.
35. HUGO, William Barry, DENYER, S.P., HODGES, Norman A., GORMAN, S.P., 2004, *Hugo & Russell's Pharmaceutical Microbiology*, 7th ed., Blackwell, Oxford, 0-632-06467-6.
36. PHILLIPS, Nancymary, 2007, *Berry & Kohn's Operating Room Technique*, 11th ed., Mosby, Ohio, 0-323-04483-2.
37. DHAAR, G.M., ROBBANI, I., 2008, *Foundations of Community Medicine*, 2nd ed., Elsevier, India, 978-81-312-1055-0.
38. KURLADZE, George V., 2007, *Environmental Microbiology Research Trends*, Nova Science, New York, 978-1-60021-939-9.

39. World Health Organization, 2004, *Surgical Care at the District Hospital*, 2nd ed., Interprint, Malta, 92-4-154575-5.
40. SUMBALI, Geeta, MEHROTRA, R.S., 2009, *Principles of Microbiology*, Tata McGraw-Hill, New Delhi, 0-07-014120-7.
41. NAKİPOĞLU, Y., GÜRLER, B., 2004, Çeşitli Dezenfektan ve Antiseptik Maddelerin Antibakteriyel Etkinliğinin Araştırılması, *ANKEM Dergisi*, 18 (4), 220-223.
42. SANIÇ, A., 1994, Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon İlkeleri, *Klinik Dergisi*, 7 (1), 13-16.
43. PARIJA, Subhash Chandra, 2009, *Textbook of Microbiology and Immunology*, Elsevier, Haryana, 978-81-312-2163-1.
44. KAYSER, F.H., BIENZ, K.A., ECKERT, J., ZINKERNAGEL, R.M., 2005, *Medical Microbiology*, Thieme, New York, 3-13-131991-7.
45. MALIK, Neelima Anil, 2008, *Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2nd ed., Jaypee, New Delhi, 81-8448-157-8.
46. SULLIVAN, John B.Jr., KRIEGER, Gary R., 2001, *Clinical Environmental Health and Toxic Exposures*, 2nd ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 0-683-08027-1.
47. TAURO, P., KAPOOR, K.K., YADAV, K.S., 1986, *An Introduction to Microbiology*, New Age International, New Delhi, 085-226-878-5.
48. MERCIER, Claire, 1997, *Infection Control: Hospital and Community*, Anybook, London, 0-7487-3319-1.
49. BROOKER, Chris, NICOL, Maggie, 2003, *Nursing Adults; The Practice Of Caring*, Mosby, China, 0-7234-3157-4.
50. POMMERVILLE, Jeffrey C., 2007, *Alcarno's Laboratory Fundamentals of Microbiology*, Jones and Bartlett, Sudbury, 0-7637-4303-8.
51. SPENCER, John F.T., RAGOUT DE SPENCER, Alicia L., 2004, *Public Health Microbiology, vol. 268: Methods and Protocols*, Humana Press, New Jersey, 1064-3745.

52. MAHON, Connie R., MANUSELIS, George, 1995, *Textbook of Diagnostic Technology*, Saunders, Philadelphia, 0-7216-4028-1.
53. ESTRIDGE, Barbara H., REYNOLDS, Anna P., WALTERS, Norma J., 2000, *Basic Medical Laboratory Techniques*, 4th ed., Thomson Learning, New York, 0-7668-1206-5.
54. KARADAĞ, Adil, 2005, Otoklav İle sterilizasyon, 4. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 20-24 Nisan 2005 Samsun*, Kongre Kitabı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 78-86.
55. SINGLETON, Paul, 2004, *Bacteria: in Biology, Biotechnology and Medicine*, 6th ed., Wiley, West Sussex, 0-470-09027-8.
56. SIMMERS, Lousse, SIMMERS-NARTKER, Karen, SIMMERS-KOBELAK, Sharon, 2009, *Diversified Health Occupations*, 7th ed., Delmar Cengage Learning, New York, 978-1-4180-3021-6.
57. FAIRCHILD, Susan S., 1993, *Comprehensive Perioperative Nursing Review*, Jones and Barlett, London, 0-86720-644-6.
58. FRIEDMAN, Candace, PETERSEN, Kathleen H., 2004, *Infection Control in Ambulatory Care*, Jones and Barlett, Sudbury, 0-7637-3190-0.
59. ARDA, Bilgin, 2003, Sterilizasyonda Ön Temizlik, Dekontaminasyon, Paketleme Ve Depolama Önerileri, 3. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 2-4 Ekim 2003 Samsun*, Kongre Kitabı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 369-377.
60. RUSCIANI, Luigi, ROBINS, Perry, 2008, *Textbook of Dermatologic Surgery, vol.1: General Cutaneous Surgery*, Piccin, Padova, 978-88-299-1898-0.
61. CORBETT, Sue, 2006, *Introduction for Spine Surgery*, Thieme, Dübendorf-Switzerland, 3-13-143351-5.
62. American Society for Healthcare Central Service Professionals of The American Hospital Associations, *Training Manual for Health Care Central Service Technicians*, 2006, , 5th ed., Jossey-Bass, San Francisco, 0-7879-8244-7.
63. REICHERT, Marimargaret, YOUNG, Jack H., 1997, *Sterilization Technology; for the Health Care Facility*, 2nd ed., An Aspen Publications, Maryland, 0-8342-0838-5.

64. Dental Assistants' Association of Australia Incorporated, 2005, *The Manual of Dental Assisting*, 4th ed., Elsevier, Australia, 0-7295-3737-4.
65. SHIELDS, Linda, WERDER, Helen, 2002, *Perioperative Nursing*, Greenwich Medical Media, London, 1-84110-083-8.
66. GÜNAYDIN, Murat, 2009, Sterilizasyonun İzlenmesi, 6. *Sterilizasyon Ve Dezenfeksiyon Kongresi, 1-5 Nisan 2009 Antalya*, Das derneği e-kitap, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 271-280.
67. MIDCALF, Brian, PHILLIPS, W.Mittchel, NEIGER, John S., COLES, Tim J., 2004, *Pharmaceutical Isolators*, Phrmaceutical Press, Cornwall, 0-85369-573-3.
68. http://www.hirayama-hmc.co.jp/e_top.html [Ziyaret Tarihi: 14 Ocak 2010].
69. KEETON, W.T., GOULD, J.L., 1999, *Genel Biyoloji*, Palme, Ankara, 975-7477-59-1.
70. ZWEERS, J.C., BARAK, I., BECHER, D., DRIESSEN, A.D.M., HECKER, M., KONTINEN, V.P., SALLER, M.J., VAVROVA, L., van DIJL, J.M., 2008, *Towards the development of Bacillus subtilis as a cell factory for membrane proteins and protein complexes*, *Microbial Cell Factories*, **7**:10doi:10.1186/1475-2859-7-10.
71. CORRY, J.E.L., CURTIS, G.D.W., BAIRD, R.M., 2003, *Progress in Industrial Microbiology*, vol.37, Elsevier Science B.V., Amsterdam, 0-444-51084-2.
72. SCHALLMEY, M., SINGH, A., WARD, O.P., 2004, *Developments in the use of Bacillus species for industrial production*, *Can J Microbiol*, **50**:1-17.
73. ROE, Simon, 2001, *Protein Purification, Application*, 2nd ed., Oxford Universty Press, Oxford, 0-19-963672-9.
74. SUNDE, Erik P., SETLOW, Peter, HALLE, Bertil, 2009, The Phsical State Of Water In Bacterial Spores, *Proceedings of the National Academy of Science (PNAS)*, **106** (46), 19334-19339.
75. CAVASSINI, M., WENGER, A., JATON, K., BLANC, D.S., BILLE, J., 1999, Evaluation of MRSA-Screen, a simple anti-PBP2a slide latex agglutination kit, for rapid detection of methicillin resistance in Staphylococcus aureus, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **37**, 1591–1594.

76. CAUWELIER, B., GORDTS, B., DESCHEEMAECKER, P., VAN LANDUYT, H., 2004, Evaluation of a disk diffusion method with ceftiofur (30 µg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 23(5), 389–392.
77. LeCHEVALLIER, Mark W., SEIDLER, Ramon J., EVANS, T.M., 1980, Enumeration and Characterization of Standard Plate Count Bacteria in Chlorinated and Raw Water Supplies, *Applied and Environmental Microbiology*, 40(5), 922-930.

EK-A**Sterilizasyon İçin Önemli Standartlar:**

<http://www.tse.org.tr> [Ziyaret Tarihi: 12 Aralık 2010]

TS EN 554: Tıbbi cihazların sterilizasyonu-buhar ile sterilizasyonun geçerliliği ve rutin kontrolü.

TS EN 285: Sterilizasyon–Buhar Otoklavları–Büyük otoklavlar

TS EN 866: Sterilizasyon İşlemleri ve Sterilizatörlerin Denenmesi İçin Biyolojik Sistemler

TS EN 867: Sterilizatörlerde Kullanım İçin Biyolojik Olmayan Sistemler

TS EN 868: Sterilize edilecek malzemelerin paketlenmesi ile ilgili standartlar.

ISO 11135: Sağlık malzemelerinin sterilizasyonu - Etilen oksit

ISO 11138: Sağlık malzemelerinin sterilizasyonu –Biyolojik indikatörler

ISO 11140: Sağlık malzemelerinin sterilizasyonu – Kimyasal indikatörler

EK-B**Onay Raporu**

28.05.2010 10:50:55

Tanım: 70derece 1dk no2

Winlog.med Validation

Winlog.med Validation 2.11

ebro Electronic GmbH & Co. KG

Genel parametreler**Aygıt**

Standart buharlı sterilizatör

SOP

Yok

Program

Program 121 °C

Standart

Yok

Hazırlayan

Admin

Onaylandı

28.05.2010 12:33:03

Sorumlu

G.Yoleri

Açıklama

Döngüler	Başlangıç	Bitiş	Süre
Boşalt	28.05.2010 10:55:00	28.05.2010 10:55:00	00:00:00
Isıt	28.05.2010 10:55:00	28.05.2010 11:13:09	00:00:00
Dengele	28.05.2010 11:13:09	28.05.2010 11:13:18	00:00:00
Sterilize et	28.05.2010 11:13:18	28.05.2010 11:43:08	00:00:00
Kurut	28.05.2010 11:43:08	28.05.2010 12:25:00	00:00:00
		Proses süresi	01:30:00
		Plato süresi	00:00:00

Yürüten:

Kontrol eden:

.....

.....

Bu rapor yalnızca ayar raporuyla birlikte geçerlidir

1/6

Onay Raporu

28.05.2010 10:50:55

Tanım: 70derece 1dk no2

Winlog.med^{Validation}

Winlog.med Validation 2.11

ebro Electronic GmbH & Co. KG

Çalışan günlükçüler# 10388697 **Son kalibrasyon tarihi** 17.02.2010 13:27:20**Kanal 1** [mbar]

Döngü	Min	Maks	Ortalama	MinMaks	OrtaMaks	OrtaMin	St. Sapma	MKT
Boşalt	1.016,4	1.016,4	1.016,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Isýt	1.014,4	1.067,4	1.020,4	53,0	47,0	6,0	9,7	0,0
Dengele	1.060,0	1.064,8	1.062,6	4,8	2,2	2,6	1,8	0,0
Sterilize et	1.011,1	1.060,2	1.027,2	49,1	33,0	16,1	5,9	0,0
Kurut	1.024,9	1.034,9	1.029,0	10,0	5,9	4,1	2,0	0,0

Kanal 2 [DegC]

Döngü	Min	Maks	Ortalama	MinMaks	OrtaMaks	OrtaMin	St. Sapma	MKT
Boşalt	25,8	25,8	25,8	0,0	0,0	0,0	0,0	299,0
Isýt	25,8	70,2	34,2	44,4	36,0	8,4	9,1	307,1
Dengele	67,1	70,2	68,5	3,1	1,7	1,4	1,1	341,7
Sterilize et	68,8	82,1	75,5	13,3	6,6	6,7	3,2	348,7
Kurut	58,1	70,2	63,7	12,1	6,5	5,6	3,3	336,8

Kanal 3 [DegC]

Döngü	Min	Maks	Ortalama	MinMaks	OrtaMaks	OrtaMin	St. Sapma	MKT
Boşalt	25,9	25,9	25,9	0,0	0,0	0,0	0,0	299,1
Isýt	25,8	69,5	34,7	43,7	34,8	8,9	9,4	307,6
Dengele	68,1	71,1	70,0	3,0	1,1	1,9	1,1	343,1
Sterilize et	70,2	83,3	75,7	13,1	7,6	5,5	3,3	348,8
Kurut	58,5	70,4	64,2	11,9	6,2	5,7	3,4	337,3

10400963 **Son kalibrasyon tarihi** 16.02.2010 10:01:43**Kanal 1** [DegC]

Döngü	Min	Maks	Ortalama	MinMaks	OrtaMaks	OrtaMin	St. Sapma	MKT
Boşalt	26,1	26,1	26,1	0,0	0,0	0,0	0,0	299,3
Isýt	25,9	67,8	34,1	41,9	33,7	8,2	9,1	307,0
Dengele	67,8	70,1	69,3	2,3	0,8	1,5	0,7	342,4
Sterilize et	69,9	81,7	75,6	11,8	6,1	5,7	3,2	348,7
Kurut	58,1	70,2	63,7	12,1	6,5	5,6	3,3	336,8

Yürüten:

Kontrol eden:

Bu rapor yalnızca ayar raporuyla birlikte geçerlidir

2/6

Onay Raporu

28.05.2010 10:50:55

Tanım: 70derece 1dk no2

Winlog.med Validation

Winlog.med Validation 2.11

ebro Electronic GmbH & Co. KG

Onay sonuçları (ayrıntılar)	Nominal	Fiili	Sonuç
Sıcaklık aralığı	$\leq 3,00K$	$> 3,00K$	Yok
Maks. Dalgalanma (Sterilizasyon)	$\leq +/-1,00$	$+/- 13,30$	Yok
Maks. Varyans (Sterilizasyon)	$\leq 2,00K$	$14,50K$	Yok
Min. Sterilizasyon süresi	$\geq 60s$	$0s$	Yok
Maks. Dengelenme süresi	$\leq 15s$	$0s$	Var

Genel onay sonucu**Yok****Proses genel görünümü**

Yürüten:

Kontrol eden:

Bu rapor yalnızca ayar raporuyla birlikte geçerlidir

3/6

Onay Raporu

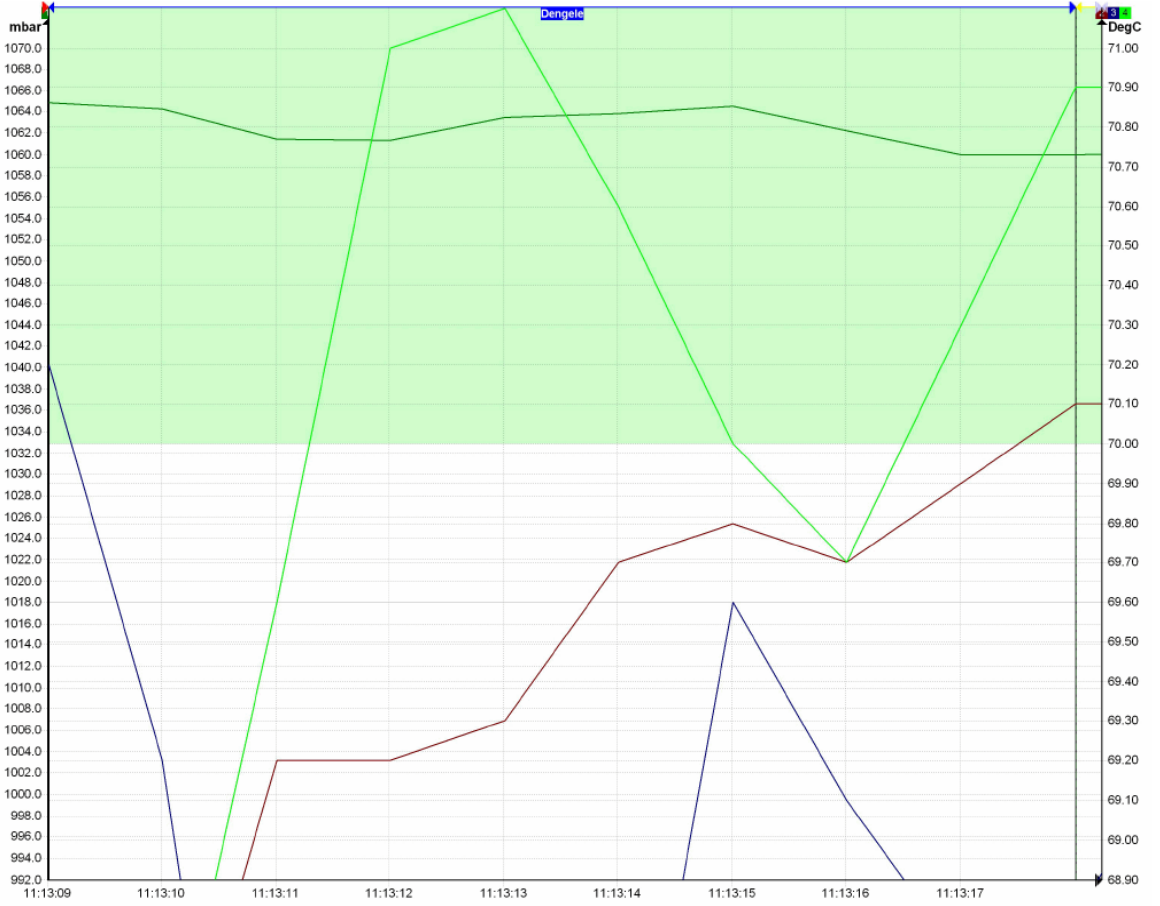
28.05.2010 10:50:55

Tanım: 70derece 1dk no2

Winlog.med Validation

Winlog.med Validation 2.11

ebro Electronic GmbH & Co. KG

Dengelenme ayrıntıları

Yürüten:

Kontrol eden:

Bu rapor yalnızca ayar raporuyla birlikte geçerlidir

4/6

Onay Raporu

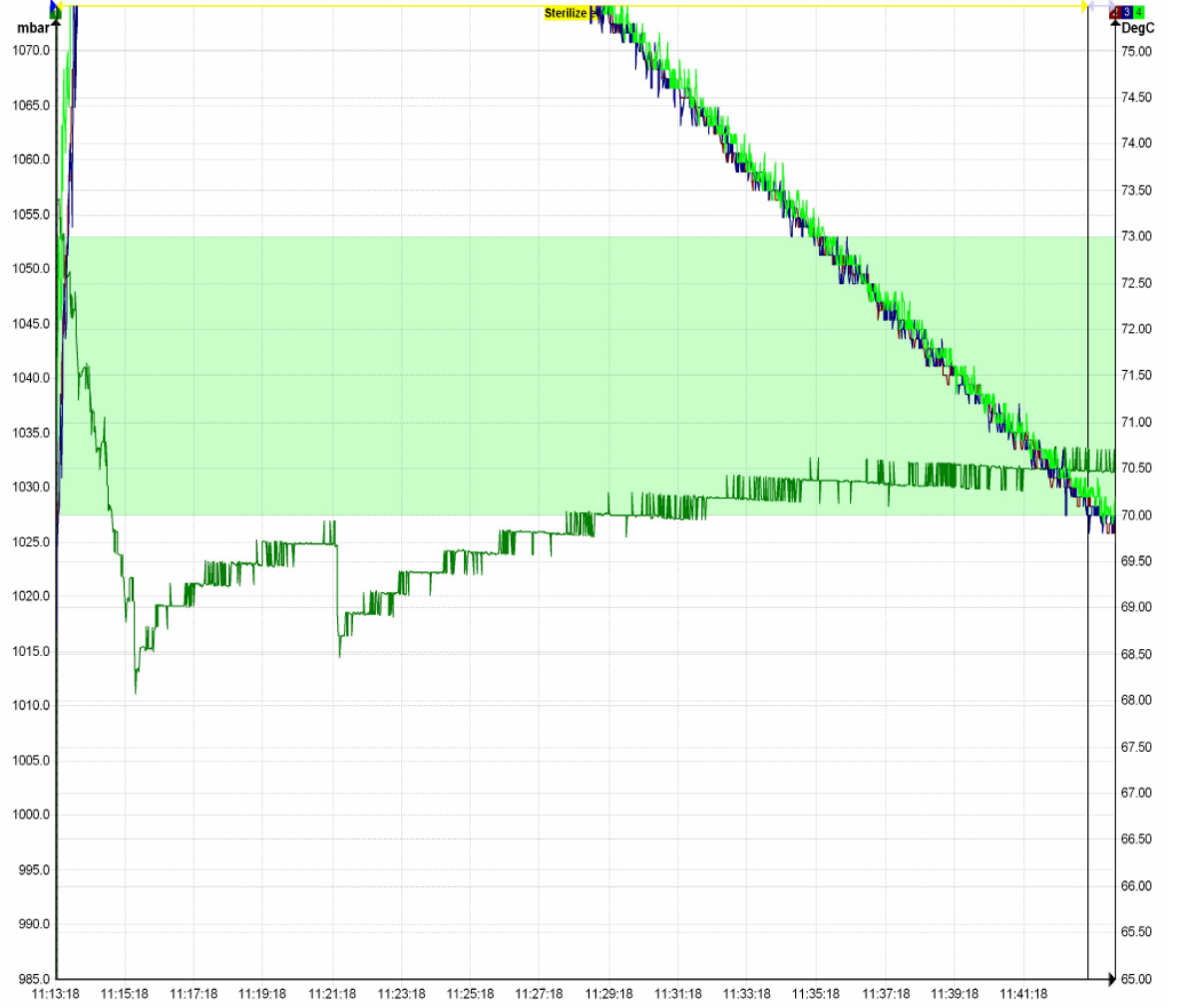
28.05.2010 10:50:55

Tanım: 70derece 1dk no2

Winlog.med Validation

Winlog.med Validation 2.11

ebro Electronic GmbH & Co. KG

Sterilizasyon ayrıntıları

Yürüten:

Kontrol eden:

Bu rapor yalnızca ayar raporuyla birlikte geçerlidir

5/6

Onay Raporu

28.05.2010 10:50:55

Tanım: 70derece 1dk no2

Winlog.med^{Validation}

Winlog.med Validation 2.11

ebro Electronic GmbH & Co. KG

Denetim İzi

Zaman damgası	Kullanıcı Açıklama	İşlem
28.05.2010 12:33:03	Admin 70derece 1dk no2	Onay değerlendirildi.
28.05.2010 12:33:03	Admin 70derece 1dk no2	Onayı elektronik olarak imzala
28.05.2010 12:29:58	Admin 10388697	Günlükçü okundu.
28.05.2010 12:29:00	Admin 10400963	Günlükçü okundu.
28.05.2010 10:52:34	Admin 70derece 1dk no2	Yeni onay oluşturuldu
28.05.2010 10:52:31	Admin 70derece 1dk no2	Onayı elektronik olarak imzala

Yürüten:

Kontrol eden:

.....

.....

Bu rapor yalnızca ayar raporuyla birlikte geçerlidir

6/6

ÖZGEÇMİŞ

Gamze YOLERİ 1983 yılında İstanbul'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da Ayhan Şahenk İlköğretim Okulu ve Reşat Tardu İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Lise öğrenimini 2001 yılında Fatih Şehremini Lisesi (YDA)'nde tamamlayarak, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü'nde öğrenim görmeye hak kazandı. 2007 yılında "Sentetik Peptit Aşı Üretilen Hastalıklar" konulu lisans tezini vererek mezun oldu. Aynı yıl İstanbul Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Yüksek Lisans Programı'nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır.