

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

GIDA TEKNOLOJİSİ

**MİKROBİYOLOJİK ANALİZLERE
HAZIRLIK
541GI0064**

Ankara, 2011

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

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR	iii
GİRİŞ	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	3
1. LABORATUVAR ÇALIŞMASI İÇİN KİŞİSEL HAZIRLIKLAR	3
1.1. Laboratuvar Kıyafetleri ve Taşınması Gereken Özellikler	4
1.2. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Genel Çalışma Kuralları	5
1.3. Mikrobiyoloji Laboratuvarları	6
1.3.1. İşletmedeki Yeri	6
1.3.2. Taşınması Gereken Teknik Şartlar	7
UYGULAMA FAALİYETİ	9
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	10
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	12
2. ARAÇ - GEREÇLERİ STERİLİZASYONA HAZIRLAMA	12
2.1. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kullanılan Araç Gereçler	12
2.1.1. Cam Malzemeler	12
2.1.2. Metal Malzemeler	18
2.1.3. Diğer Araçlar	22
2.2. Cam Malzemelerin Temizlenmesi	27
2.2.1. Yıkınması ve Durulanması	27
2.2.2. Temizleyici Kimyasalların Hazırlanması	28
2.2.3. Saf Sudan Geçirilmesi	28
2.3. Sterilizasyon	29
2.3.1. Tanımı	29
2.3.2. Mikrobiyolojik Çalışmalarda Sterilizasyonun Önemi	29
2.4. Cam Malzemenin Sterilizasyona Hazırlanması	29
2.5. Metal ve Porselen Malzemelerin Sterilizasyona Hazırlanması	30
UYGULAMA FAALİYETİ	31
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	34
ÖĞRENME FAALİYETİ-3	37
3. ANALİZ ARAÇ-GEREÇLERİNİN STERİLİZASYONU	37
3.1. Araç Gereçlerin Sterilizasyonu	37
3.2. Sterilizasyon Yöntemleri	38
3.3. Kuru Sıcak Havada Bekletme (Kuru Sterilizasyon) İşlemleri	39
3.3.1. Araç gereçlerin Sterilizasyona Hazırlanması	40
3.3.2. Sterilizasyona Hazırlanmış Malzemelerin Etüve Uygun Şekilde Yerleştirilmesi	40
3.3.3. Etüvün Çalıştırılması	40
3.3.4. Sterilizasyon Sonunda Etüvün Boşaltılması	40
3.4. Mikrodalga Fırında Sterilizasyon ve Kullanımı	41
UYGULAMA FAALİYETİ	42
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	44
ÖĞRENME FAALİYETİ-4	47
4. DİLÜSYON (SEYRELTME) ÇÖZELTİSİ HAZIRLAMA	47
4.1. Tanımı ve Önemi	47
4.2. Seyreltmede Kullanılan Çözeltiler	48
4.2.1. Fizyolojik Tuzlu Su (Serum Fizyolojik-FTS)	48

4.2.2. Peptonlu Su (% 0.1)	48
4.2.4. Peptonlu Fizyolojik Tuzlu Su	50
4.2.5. 1/4 Kuvvetinde Ringer Çözeltisi	50
4.2.6. % 15'lik Sodyum Klorür Çözeltisi	50
4.2.7. % 20'lik Sakkaroz Çözeltisi	51
4.3. Dilüsyon Çözeltisi Hazırlarken Dikkat Edilecek Noktalar	51
4.4. Dilüsyon Çözeltisi Hazırlama Hesaplamaları	51
4.5. Sterilizasyona Hazırlık	52
UYGULAMA FAALİYETİ	53
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	55
ÖĞRENME FAALİYETİ-5	58
5. ÇÖZELTİLERİN STERİLİZASYONU	58
5.1. Basıncılı Buhar (Otoklav) ile Sterilizasyon	58
5.2. Otoklavın Kullanımı ve Basıncılı Buhar İşlemleri	60
UYGULAMA FAALİYETİ	62
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	64
ÖĞRENME FAALİYETİ-6	66
6. STERİL MALZEMELERİN SAKLANMASI	66
6.1. Steril Malzemeleri Saklama İlkeleri	66
6.1.1. Steril Çözeltileri Saklama	66
6.1.2. Cam, Metal ve Porselen Malzemeleri Saklama	67
6.2. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Buzdolabı Kullanım Kuralları	68
UYGULAMA FAALİYETİ	69
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	70
ÖĞRENME FAALİYETİ-7	72
7. ASEPTİK ÇALIŞMA TEKNİĞİ	72
7.1. Bek Altında Çalışma	73
7.2. Aktarma Teknikleri	74
7.3. Çalışma Ortamını Dezenfekte Etme	75
7.3.1. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kullanılan Dezenfektanlar ve Özellikleri	75
7.3.2. Dezenfektanların Hazırlanması ve Kullanılmasında Dikkat Edilecek Noktalar ..	76
7.3.3. Laboratuvarda Zemin Dezenfeksiyonu	77
7.3.4. Tezgâh ve Masaların Dezenfeksiyonu	77
UYGULAMA FAALİYETİ	78
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	82
MODÜL DEĞERLENDİRME	85
CEVAP ANAHTARLARI	87
KAYNAKÇA	89

AÇIKLAMALAR

KOD	541GI0064
ALAN	Gıda Teknolojisi
DAL/MESLEK	Gıda Kontrol/ Gıda Laboratuvar Teknisyeni
MODÜLÜN ADI	Mikrobiyolojik Analizlere Hazırlık
MODÜLÜN TANIMI	Bu modül Gıda Teknolojisi Gıda Kontrol dalında eğitim ve öğrenim gören öğrenciler için hazırlanmış, laboratuvar çalışması için kişisel hazırlık yapma, araç gereçleri sterilizasyona hazırlama ve sterilize etme, seyreltme çözeltileri ve tampon çözelti hazırlayarak sterilize etme, steril malzemelerin muhafazası, aseptik tekniğe uygun olarak çalışma yapabilme yeterliliğinin kazandırıldığı öğrenme materyalidir.
SÜRE	40/32
ÖN KOŞUL	Ön koşul yoktur.
YETERLİK	Mikrobiyoloji laboratuvarında analiz öncesi hazırlıkları yapmak
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç Uygun ortam sağlandığında aseptik tekniğe uygun olarak analiz öncesi hazırlık işlemlerini yaparak mikrobiyolojik analizlere başlayabileceksiniz. Amaçlar: <ol style="list-style-type: none">1. Mikrobiyoloji çalışma kurallarına uygun olarak laboratuvar çalışması için kişisel hazırlık yapabileceksiniz.2. Aseptik tekniğe uygun olarak araç gereci sterilizasyona hazırlayabileceksiniz.3. Aseptik tekniğe uygun olarak analiz araç gereçlerinin sterilizasyonunu yapabileceksiniz.4. Formülasyona uygun olarak seyreltme çözeltilerini (dilüsyon sıvılarını) hazırlayabileceksiniz.5. Hazırlanan çözeltilerin özelliğine uygun olarak sterilizasyonunu yapabileceksiniz.6. Sterilizasyon kurallarına uygun olarak steril materyalleri saklayabileceksiniz.7. Aseptik tekniğe uygun olarak aseptik çalışma yapabileceksiniz.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Mikrobiyoloji laboratuvarı, soyunma dolapları, temiz laboratuvar önlüğü, deney tüpleri, balon ve erlenmeyer, pipetler, petri kapları, petri kutuları, metal ve porselen malzemeler (havan, havan eli, örnek kapları vb) mezürler, şişeler, termometre, su geçirmez yağlı pamuk, pamuklanmış boş cam malzemeler, kağıtlanmış metal ve porselen malzemeler, etüv, otoklav, saat, pepton, sodyum klorür,

	spatül, baget, tartım kabı, terazi, balonjoje, saf su, alüminyum folyo, tüplük, cam kalemi, kalem, kağıt, buzdolabı, steril metaryeller, malzeme dolabı, UV lambalı sterilizatör, çalışma tezgahları, masalar, zemin, paspas, dezenfektan, alkol, UV lambaları, kütüphane, İnternet ortamı vb.
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modülün içinde yer alan her bir öğrenme faaliyetinden sonra verilen ölçme araçları ile kendinizi değerlendireceksiniz. Modül sonunda ise kazandığımız bilgi, beceri ve tavırları ölçmek amacıyla öğretmen tarafından hazırlanacak yazılı ve uygulamalı sınav ölçme araçları ile değerlendirileceksiniz.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Gıda laboratuvarlarında yapılan inceleme ve analizler; fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler olarak ayrılır. Analizler bu alanda yetişmiş elemanlar tarafından yapılmaktadır.

Gıda mikrobiyolojisi laboratuvarında gıdalarda çeşitli mikroorganizmalar aranır veya sayılır. Burada önemli olan analizlerin aseptik ortamda ve koşullarda yapılıp, standart ve tüzüklere uygunluğunun kontrolüdür.

Laboratuvar personeli mikrobiyolojik analizleri doğru yapmak ve doğru sonucu almak zorundadır. Bunun için personelin uyması gereken iki önemli kural vardır. Birincisi steril çalışma zorluğu ve sorumluluğunun kavranması, diğeri ise çalışılan materyalin “mikrop” olduğunun unutulmamasıdır.

Mikrobiyolojik Analizlere Hazırlık modülü, laboratuvar çalışma kurallarını ve dikkat edilmesi gereken noktaları, analizlerde kullanılan araç – gereçleri tanıma ve analiz için mikroorganizmalardan arındırma, mikroorganizma aranması için gerekli ortamların hazırlanması gibi analiz öncesi yapılması gereken tüm işlemleri ve uygulama esnasında dikkat edilecek hususları içermektedir. Ayrıca ileride işletme ortamında mikrobiyoloji laboratuvarı hazırlamada da sizlere yardımcı olacaktır.

Bu modülü daha iyi anlayabilmek için “İşletmelerde Hijyen ve Sanitasyon” dersi modüllerinin tekrar gözden geçirilmesi başarıyı arttıracaktır.

Bu modülün amacı gıda mikrobiyoloji laboratuvarında yapılan analiz öncesi hazırlık işlemleri hakkında sizlere yol gösterici olmaktır.

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Bu faaliyet sonunda gerekli bilgileri alıp, uygun ortam, araç-gereç ve ekipman sağlandığında mikrobiyoloji laboratuvarında çalışma kurallarına uygun olarak laboratuvar çalışması için kişisel hazırlık yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Çevrenizde bulunan gıda işletmelerinin mikrobiyoloji laboratuvarından randevu olarak laboratuvarında çalışma sırasında dikkat edilecek hususları araştırınız.
- Araştırmalarınızı rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

1. LABORATUVAR ÇALIŞMASI İÇİN KİŞİSEL HAZIRLIKLAR

- Personel kişisel temizliğe dikkat etmeli, tırnaklar kısa kesilmiş olmalı, saçlar uzun ise bağlanmalıdır. Bu hem hijyen hem de bunzen beki alevinden yanma tehlikesini engeller.
- Laboratuvara her giriş ve çıkışta eller mutlaka dezenfekte edilmelidir.
- Grip, nezle, benzeri hastalıklara yakalanmış personel özel koruyucu maske ile çalışmalıdır.
- Laboratuvara girerken beyaz ve temiz önlük giyilmelidir. Önlük düğmeleri kapalı olmalıdır.
- Çalışma bittikten sonra önlük çıkarılıp yerine asılmalıdır. Bulaşma olmaması için laboratuvar dışında giyilmemelidir.
- Ellerinde kesik, yara olan personel laboratuvarında eldiven ile çalışmalıdır.

1.1. Laboratuvar Kıyafetleri ve Taşınması Gereken Özellikler

- Önlük temiz olmalıdır.
- Önlük sadece laboratuvarında kullanılmalıdır.
- Önlüğün yanmaz kumaştan olması tercih edilmelidir.
- Önlük boyunun diz kapağını örtecek uzunlukta, kol boyunun da uygun uzunlukta ve lastikli olması tercih edilmelidir.
- Laboratuvarında kullanılacak önlüğün cepsiz olması tercih edilmelidir.
- Önlük laboratuvarında incelenen mikroorganizma türüne göre belli periyotlarda yıkanmalı ve mutlaka ütülenmelidir.
- Çalışma sırasında önlüğe mikrop bulaşma olasılığında önlük hemen değiştirilmeli ve kirlenen önlüğün dezenfekte edilmesi sağlanmalıdır.
- Laboratuvarında kullanılacak ayakkabı ve terlikler su geçirmez, kolay temizlenebilir, kaymayan, topuksuz özellikte olmalı ve yalnızca laboratuvarında giyilmelidir.
- Gerekli durumlarda galoş kullanılmalıdır.
- Bone, maske ve eldivenler steril ve tek kullanımlık olmalıdır.



Resim 1.1: Laboratuvar önlüğü

1.2. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Genel Çalışma Kuralları

➤ Laboratuvara sadece laboratuvarında çalışanlar girmelidir.
➤ Kişisel temizlik kurallarına titizlikle uyulmalıdır.
➤ Mikrobiyoloji laboratuvarında mutlaka mikrobiyoloji eğitimi almış kişiler çalışmalıdır.
➤ Laboratuvarında kesinlikle hiçbir şey yenmemeli ve bulundurulmamalıdır.
➤ Çalışırken laboratuvar kapı ve pencereleri kapalı tutulmalıdır.
➤ Laboratuvar hijyeni açısından laboratuvarında gereksiz her türlü malzemenin bulunması önlenmelidir.
➤ İşe başlamadan önce çalışma tezgahları dezenfekte edilmeli ve her çalışma bitiminde tezgahlar tekrar dezenfekte edilmelidir
➤ Mikroorganizma kültürlerine elle dokunulmamalı, kültürlerin kapakları açık bırakılmamalı, kültürler ve laboratuvar metaryelleri laboratuvar dışına çıkarılmamalıdır.
➤ Laboratuvarında yüksek sesli konuşulmamalı, ani hareketlerden kaçınılmalıdır.
➤ Laboratuvarında bulunan çöp tenekelerinin içine otoklavlanabilir poşetler koyulmalı, atılacak her türlü malzeme otoklavlandıktan sonra atılmalıdır.
➤ Dezenfeksiyonda ticari olarak pazarlanan ürünler kullanılmalıdır.
➤ Mikroorganizma üremiş materyalin kırılması, mikroorganizmanın dökülmesi durumunda laboratuvar sorumlusuna bildirilmelidir.
➤ Dezenfeksiyon sırasında ve kırılmış malzemenin toplanmasında eldiven kullanılmalıdır.
➤ Laboratuvar araçları boş ya da dolu olarak önlük cebinde taşınmamalı, tüpler tüplükte tutulmalı, masa veya tezgâh üzerine gelişigüzel bırakılmamalıdır.
➤ Laboratuvardan ayrılmadan önce su ve hava gazı muslukları ile kullanılmayacak bölümlerin elektrik şalteri kapatılmalıdır.
➤ Pipetleme yapılırken üflenmemelidir.
➤ Etiket kullanılacaksa, etiketler dille sürülmemelidir.
➤ Kullanılacak tüm araç gereç sterilize edilmelidir.
➤ Sterilizasyonundan kuşku duyulan malzemeler kullanılmamalıdır.
➤ Laboratuvar sorumlusunun yaptığı görev paylaşımına kesinlikle uyulmalıdır.
➤ Mikroskop, terazi, etüv, sterilizatör gibi aletler her kullanımdan sonra kapatılmalıdır.
➤ Mikroskop her kullanımdan önce temizlenmeli ve temiz bırakılmalıdır.
➤ Direkt olarak mikroorganizmalar ile temas eden pipet, lam, lamel gibi malzemeleri kullandıktan sonra dezenfektan çözeltisi bulunan özel kaplara konulmalıdır.
➤ Pipetler kullanımdan önce pipet kutusu içinde sterilize edilmeli ve kullanım aralarında pipet kutusunun ağzı kapalı tutulmalıdır.
➤ Analiz sonunda çalışma raporu hazırlanarak sorumluya teslim edilmelidir.
➤ Size ait olmayan hiçbir şeye dokunmamalı ve hiçbir şeyin yeri değiştirilmemelidir.

1.3. Mikrobiyoloji Laboratuvarları

Fransızca “laboratoire” olan sözcük okunuşuyla laboratuvar olarak dilimize girmiştir. Gıda laboratuvarı “**üretim, araştırma-geliştirme ve kontrol amacıyla gıda ve gıda hammaddelerinin özelliklerinin belirlendiği, bunun için gerekli araç gereçlerin bulunduğu yer**” olarak tanımlanmaktadır.

- Gıda laboratuvarlarında yapılan inceleme ve analizler
- fiziksel,
 - kimyasal,
 - mikrobiyolojik analizler olarak ayrılır.

Fiziksel ve kimyasal analizler aynı laboratuvarında yapılabilirken mikrobiyolojik analizlerin ayrı laboratuvarda yapılması gerekir. Çünkü hem gıdadan insanlara mikroorganizma bulaşmaması hem de analiz sonucunun güvenilir olması için gıdadaki mikroorganizma sayısının değişmemesi gerekir. Bu nedenle steril ortamda titiz ve dikkatli çalışılmalıdır. Bu da iyi düzenlenmiş bir mikrobiyoloji laboratuvarında yapılabilir.

Gıda mikrobiyolojisi laboratuvarında hammaddede, yardımcı maddelerde, çalışma ekipmanı ve atmosferinde, ambalaj materyalinde, kullanma suyunda, işlenmiş gıdada bulunabilen mikroorganizmaların aranması veya sayımı yapılır.

Genel olarak gıdalarda saprofit ve patojen mikroorganizmaların bulunması istenmez. Gıda çeşidine göre belirli mikroorganizmaların gıdalarda bulunması kaçınılmazdır. Gıdanın elde edildiği hammaddede doğal olarak bulunan, insan sağlığına zarar vermeyen ve işlem gereği tümüyle öldürülemeyen bu mikroorganizmaların belirli sayılarda gıdada bulunmasına izin verilir.

Mikroorganizmaların yüksek sayıda bulunması işletmenin hijyenik şartlarının iyi olmadığı ve çalışanların hijyen kurallarına uymadığının işareti olarak kabul edilir.

Gıdanın belirlenmiş kalite sınırları içinde olup olmadığı çeşitli analizlerle mikrobiyoloji laboratuvarlarında kontrol edilir.

1.3.1. İşletmedeki Yeri

Mikrobiyoloji laboratuvarlarının, işletmelerin zemin katlarında, doğal ışık alabilen ve işletmeden bağımsız olarak inşa edilmesi gerekir.

Gıda mikrobiyolojisi laboratuvarının en önemli özelliği ayrı bir ekim odası bulunmasıdır. Bu oda genel ve basit olarak ana laboratuvardan cam ile ayrılmış bir bölme şeklinde kurulabilir.

1.3.2. Taşınması Gereken Teknik Şartlar

- Tavan, duvar ve tezgâhlar mikroorganizma barındırmayan ve kolay temizlenebilir malzemeden yapılmalıdır.
- Laboratuvarında toz bulunmamalı, fiziki yerleşimde buna dikkat edilmelidir. Araç gereç toz tutmayacak şekilde yerleştirilmeli, dolaplar tavana kadar olmalı, dolapların yerden yüksekliğinin de 20 cm olması dolap altının rahat temizlenmesini sağlar.
- Havalandırma, laboratuvara taze hava sağlayacak şekilde, nem ve sıcaklığı kontrol ederek yapılmalıdır. Pencereden sağlanan doğal havalandırma yanında mekanik sistemlerle ısıtma ve soğutma da yapılabilir. Filtrasyon sayesinde de tozlanmanın önüne geçilir.
- Laboratuvarında yeterli sayıda elektrik prizi, su musluğu, eviye ve hava gazı bulunmalıdır. Muslukların açma-kapama vanaları basit olmalı, prizlerin sigortaları kolay ulaşılabilir yerde bulunmalıdır.

Öncelikle vanaların ve sigortaların yerini ve nasıl kapatılacağını öğrenmelisiniz.

- Laboratuvara direkt güneş ışığının girmesinden sakınılmalı, doğal ışık veren floresan lambalar tercih edilmelidir.
- Otoklav ve yıkama odası ortamda nem olmaması için tercihen mikrobiyoloji laboratuvarları dışında olmalıdır.
- Besiyerleri ve kimyasal maddeler kuru, serin ve karanlık dolapta depolanmalıdır.
- Steril olan ve olmayan malzeme ayrı dolaplarda depolanmalıdır.
- Soğutucu ve inkübatör gibi sıcaklığa duyarlı ekipmanın yerleştirilmesinde dikkatli olunmalıdır.
- Laboratuvarında ilk yardım dolabı bulunmalıdır. Personel basit kazalarda (kesik, yanık vb) nasıl davranacağını bilmeli yani ilk yardım eğitimi almış olmalıdır.
- Ekim odası veya mikrobiyoloji laboratuvarında UV (ultra viyole) lambası kullanılarak havada veya yüzeylerde sterilizasyon sağlanabilir.

UV lambası laboratuvarında çalışma yapılırken kapalı tutulmalı, çalışma saati dışında açık tutulmalıdır. UV ışığının gözlerde körlük, deride kanser yapabileceğinin unutulmaması gerekir. Camlı ekim odasında yanan UV lambasının oda dışında çalışanlara zararı olmaz.

- Lamba yanarken kapının açılması durumunda sesle uyarı sistemi devreye girerek çalışanları uymalıdır.
- UV lambasının kontrol düğmesinin dışarıda olması güvenlik açısından önemlidir (Resim 1.1).



Resim 1.2:UV uyarısı

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarına göre, mikrobiyoloji laboratuvarında çalışma öncesi kişisel hazırlık yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Kişisel hijyen sağlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Personel hijyeni modülündeki 'Kişisel Temizlik Kuralları'nı hatırlayınız.➤ Saçlarınızı toplamaya özen gösteriniz.➤ Ellerinizi dezenfektan etkili sabun ile yıkamaya dikkat ediniz➤ Kâğıt havlu ile kurulamaya özen gösteriniz
<ul style="list-style-type: none">➤ Temiz laboratuvar önlüğü giyiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar kıyafetleri ve taşınması gereken özellikler konusunu hatırlayınız.➤ Çalışma sırasında önlüğün düğmelerini ilikleme unutmayınız.➤ Galoş kullanmayı alışkanlık hâline getiriniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Çıkarttığınız kıyafetleri varsa dolabınıza yoksa askıya düzgün şekilde asınız.	
<ul style="list-style-type: none">➤ Gerekliğinde koruyucu malzeme takınız.	
<ul style="list-style-type: none">➤ Ellerinizi dezenfekte ediniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Mikrobiyoloji Laboratuvarında Genel Çalışma Kuralları başlıklı konuyu hatırlayınız.➤ Her çalışma öncesi ve sonrası ellerinizi dezenfekte etmeyi alışkanlık hâline getiriniz.
Mikrobiyoloji Laboratuvarı Çalışma Kurallarına Uyunuz	

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki seçeneklerden doğru olanı işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi laboratuvar önlüğünün taşınması gereken özelliklerden biri **değildir**?
A) Önlük boyu diz hizasında olmalı
B) Önlüğün kolu lastikli olmalı
C) Önlükte bol cep bulunmalı
D) Önlük yanmaz kumaştan yapılmalı
2. Aşağıdakilerden hangisi laboratuvar çalışma kurallarından **değildir**?
A) Laboratuvar kapı ve pencereler kapalı tutulmalı
B) Laboratuvar araç-gereci önlük cebinde taşınmalı
C) Laboratuvarda yemek yenmemeli
D) Laboratuvarda yüksek sesle konuşulmamalı
3. İşlenmiş gıdalarda bulunan mikroorganizmaların bulaşma kaynakları aşağıdakilerden hangisidir?
A) Hammadde
B) İşletme atmosferi
C) Kullanma suyu
D) Hepsi

Aşağıdaki cümlelerde verilen bilgiler doğru ise parantez içine (D), yanlış ise (Y) yazınız.

4. () Laboratuvara sadece laboratuvarda çalışanlar girmelidir.
5. () Direkt olarak mikroorganizmalar ile temas eden pipet, lam, lamel gibi malzemeler kullanıldıktan sonra yıkanarak yerine konmalıdır.
6. () Gıdalarda patojen mikroorganizma bulunması istenmez.
7. () Camlı ekim odasında yanan UV lambasının oda dışında çalışanlara zararı olmaz.
8. () Mikroorganizmaların yüksek sayıda bulunması işletmenin hijyenik şartlarının iyi olduğunu gösterir.
9. () Mikrobiyoloji laboratuvarı işletme ile doğrudan bağlantı halinde olması hijyen açısından önemlidir.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz. Tüm sorulara doğru cevap verdiyseniz uygulama testine geçiniz.

UYGULAMALI TEST

Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışma öncesi kişisel hazırlık yapınız. Yaptığınız uygulamayı kontrol listesine göre değerlendirerek eksik veya hatalı gördüğünüz davranışları tamamlama yoluna gidiniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Kişisel hijyen kurallarını uyguladınız mı?		
2. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Genel Çalışma Kurallarını okudunuz mu?		
3. Temiz laboratuvar kıyafetlerini giydiniz mi?		
4. Kullanmadığınız kişisel eşyalarınızı dolabınıza kaldırdınız mı?		
5. Çalışmanız açısından sakıncalı bir durumunuz varsa laboratuvar sorumlusuna bildirdiniz mi?		
6. Çalışmanıza izin verildiyse koruyucu önlemleri aldınız mı?		
7. Ellerinizi dezenfekte ettiniz mi?		

DEĞERLENDİRME

Yapılan değerlendirme sonunda “**Hayır**” şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Cevaplarınızın tamamı “**Evet**” ise bir sonraki faaliyete geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Bu faaliyet sonunda gerekli bilgileri alıp, uygun ortam, araç-gereç ve ekipman sağlandığında aseptik tekniğe uygun olarak araç gereçleri sterilizasyona hazırlayabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan cam malzeme çeşitlerini araştırınız.
- Mikrobiyoloji laboratuvarında saf su kullanma nedenini ve saf su elde etme yöntemlerini araştırınız.
- Mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan araç gereçlerin sterilizasyonundaki işlem basamaklarını araştırınız.
- Yukarıdaki konuları gruplar hâlinde çalışarak sınıf arkadaşlarınızla paylaşınız.

2. ARAÇ - GEREÇLERİ STERİLİZASYONA HAZIRLAMA

2.1. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kullanılan Araç Gereçler

Gıda mikrobiyolojisi laboratuvarında şu araç gereçler bulunur;

- Cam malzemeler
- Metal malzemeler
- Plastik malzemeler
- Diğer malzemelerdir

2.1.1. Cam Malzemeler

Gıda laboratuvarında en sık ve çok kullanılan malzemelerdir. Cam malzemelerin kullanım yeri ve dayanıklılığı üretildiği camın kalitesine göre değişir.

Cam malzemeler adi cam ve pyrex'ten üretilir. Adi cam ucuz olmasına rağmen yüksek sıcaklık, basınç ve ani sıcaklık değişikliklerine dayanıksız olduğundan laboratuvar malzemesi üretimine pek uygun değildir. Pyrex cam; sıcaklık, asit ve alkalilere dayanıklıdır. Bu nedenle laboratuvarda kullanılan cam malzemelerin büyük çoğunluğu bu malzmeden üretilmiştir.

Cam malzemeler şunlardır: Deney tüpleri, durham tüpleri, petri kutuları, lam, lamel, pipetler, erlenler, balonlar, ölçü balonları (balon joje), beherler, ölçü silindiri (mezür), cam çubuklar (baget) ve drigalski spatülüdür.

Özellikleri ve Kullanım Alanları;

Deney tüpleri; alt kısmı yuvarlak, kapalı, ağız kısmı açık cam malzemelerdir. Çoğunlukla 18x180 mm veya 15x150 mm boyutları tercih edilir. Tüplük veya spor denilen tüp koruyucularına dizilerek, dilüsyon çözeltileri ve besiyerlerinin hazırlanmasında kullanılır (Resim 2.1).

Durham tüpleri; 7x25 mm boyutlarındadır. Gaz oluşturarak test edilen mikroorganizmaların tesbit için sıvı besiyeri ekimlerinde kullanılır. Test tüpünün içine ters yerleştirilerek üzerine sıvı besiyeri konular ve sterilize edilir.



Resim 2.1: Deney tüpleri



Resim 2.2: Petri kutusu

Petri kutusu; iç içe geçmiş iki cam kapaktan oluşur. Genellikle yükseklik 1.5 cm, çap 9 cm'dir. Daha küçük veya daha büyük petri kutuları da vardır. Günümüzde saydam plastikten ve tek kullanımlık olarak üretilen petri kutularının kullanımı yaygınlaşmıştır. Küçük olanın içine ince tabaka sterilize edilmiş besiyeri dökülür ve mikroorganizmaların izolasyonu ile sayımı yapılır (Resim 2.2).

Lam; genellikle 26x76 mm boyutlarında dikdörtgen cam malzemedir. Preparat hazırlamada kullanılır. Thoma lamı (maya sayımında), Howard lamı (küf sayımında), çukur lam gibi özel tipte lamlar da kullanılmaktadır.

Lamel; kare şeklinde çok ince camdan yapılmıştır. Genellikle 20x20 mm veya 22x22 mm boyutlarındadır. Temiz lameller lam üzerindeki örneği kapatmada kullanılır.

Pipetler; belli hacimlerde sıvı alma ve aktarma işlemlerinde kullanılan içi boş, dereceli veya derecesiz özel cam veya plastik borulardır.

Her pipetin uç ve ağız kısmı bulunur. Uç kısmı damlalık şeklinde inceltilmiştir. 0.1-0.2-0.5-1-2-5-10-20-25 ve 50 ml gibi değişik ölçülerde pipetler vardır.

Pipet Çeşitleri

- **Otomatik Pipet:** Sıvıyı çekme ve bırakma düğmeleri vardır. Sıvı miktarını pipet hacmi kadar otomatik olarak çeker (Resim 2.3.).
- **Tek Kullanımlık Steril Pipet:** Plastik materyalden bir sefer kullanım için yapılmış pipetlerdir (Resim 2.4.).
- **Tam Ölçü Pipeti (Bullü Pipet, Joje Pipet, Pastör Pipeti):** Üzerlerinde ağza yakın kısımda hacmi bildiren bir çizgi vardır. Orta kısmı şişkindir (Resim 2.5.).
- **Dereceli pipet:** Üzerlerinde taksimat bulunan pipetlerdir (Resim 2.6.).



Resim 2.3: Otomatik pipet



Resim 2.4: Tek kullanımlık pipet



Resim 2.5: Tam ölçü pipeti



Resim 2.6: Dereceli pipet

Mikrobiyoloji laboratuvarında daha çok 0,1-1 ml arası hacimde pipetler kullanılır.

Mikrobiyolojik çalışmalarda doğru pipet seçimi ve doğru pipetleme çok önemlidir. Bunun için aktarılacak hacim için uygun ölçülü pipet seçilmelidir. Örneğin 1 ml sıvı aktarılacaksa 1 ml'lik pipet seçilmelidir. 1 ml'lik pipet yoksa 2 ml'lik pipet kullanılabilir.

Pipetleme sırasında, incelenen sıvının yutulma tehlikesine karşı önlem olarak lastik puvar (**Not:** Maddede Temel Değişimler Modülündeki bilgilerinizi hatırlayınız.) veya bullu pipetler kullanılabilir.



Resim 2.7: Numunenin pipete çekilmesi



Resim 2.8: Pipetten petri kutusuna aktarma

Pipetlerle aşağıdaki şekilde çalışılmalıdır:

- Mikrobiyoloji laboratuvarında mutlaka steril pipetlerle çalışılmalıdır.
- Steril pipetler, pipet kutusundan veya paketlenmiş ise kâğıdından uygun şekilde çıkarılmalı, asla uç kısmına dokunulmamalı ve sterilliğinin bozulmamasına dikkat edilmelidir.
- İstenilen hacimdeki steril pipet, orta ve baş parmak arasında tutularak ucu çözeltiye daldırılmalıdır (Resim 2.7.).
- Pipetin ağız kısmındaki boşluktan hafif bir emme hareketiyle istenilen hacim miktarını biraz geçinceye kadar çözelti pipet içine çekilmelidir. Pipete sıvı çekilirken yavaş yavaş çekilmeli, aksi taktirde ağza kaçabileceği unutulmamalıdır.
- Ağız kısmı hızla işaret parmağıyla kapatılmalı, pipetin ucu çözülden çıkartılmalıdır. Üst kısımdaki işaret parmağının baskısı pipet içerisindeki çözelti istenen hacim çizgisine gelinceye kadar azaltılmalıdır. İstenen hacim çizgisi ile pipet içerisindeki çözeltinin yarım ay kavisinin alt ucu birbirine tam teğet olduğu zaman işaret parmağı tam olarak kapatılmalıdır.
- Çözelti aktarılmak istenen yere pipetin alt ucu değiştirilip işaret parmağı kaldırılarak boşaltılmalıdır. Pipetlenen sıvı boşaltılırken kendi kendine boşalması sağlanmalı, ağız kısmından hiçbir zaman üflenerek boşaltılmamalıdır (Resim 2.8.).
- Pipetler boşaldıktan sonra uç kısımlarında bir miktar sıvı kalabilir. Bu durum normaldir. Pipet bu sıvı kalacak şekilde işaretlenmiştir.
- Zehirli ve yakıcı maddeler kesinlikle ağızla çekilmemelidir.

Erlen; erlenmayer olarak da isimlendirilen bu malzeme dip kısmı geniş, ağız kısmı dar bir boğazla sona eren konik şekle yakın bir görünüme sahiptir. Ağız tıraşlı ya da tıraşsız olabilir. Bunun yanısıra kapaklı ve kapaksız olanları, hacim göstergeli ve nuçe erlenleri de vardır. En çok 100-500 ml arasındaki hacimde erlenler kullanılır. Mikrobiyoloji laboratuvarında;

- Besiyeri hazırlanmasında,
- Dilüsyon çözeltisi hazırlanmasında,
- Aktarma işleminde,
- Numune kabı olarak kullanılır

Balon; gövdesi küresel, dibi düz veya yuvarlak; az veya çok uzun, dar bir boğazı olan cam malzemelerdir. Laboratuvarlarda en fazla kullanılan 250-1000 ml arasında olanlardır. Mikrobiyolojik çalışmalarda besiyerlerinin hazırlanmasında ve sterilizasyonunda kullanılır (Resim 2.9).



Resim 2.9: Balonlar



Resim 2.10: Balon joje

Balon joje; dar uzun boyunlu, boyun kısmında ölçü çizgisi bulunan, ağız kısmı tıraşlı veya tıraşsız olabilen cam malzemelerdir. Ölçü çizgisine kadar tam doldurulduğunda üzerinde belirtilen hacim kadar sıvı alır. Farklı boy ve hacimde olanları vardır. Genellikle istenen hacimde çözelti hazırlamada kullanılır (Resim 2.10).

Beherler; altı düz, bardak şeklinde, silindirik cam kaplardır. Ağız kısmı sıvı aktarmaya uygun yapılmıştır. Farklı boy ve hacimde olanları vardır. En çok kullanılanlar 50, 100, 250, 500, 1000 ml olanlardır. (Resim 2.11.).



Resim 2.11: Beher

Beherler mikrobiyoloji laboratuvarında;

- Isıtma,
- Karıştırma,
- Tartım,
- Aktarma,
- Besiyeri ve çözelti hazırlama,
- Örnek kabı olarak kullanılır

Mezür; genelde sıvıların ölçümünde ve aktarımında kullanılır (Resim 2.12.).



Resim 2.12: Silindir (mezür)

Cam çubuk (baget); cam çubuk baget olarak da isimlendirilir. Çapı 3-10 mm, uzunluğu 10-30 cm arasındadır. Uçları alevle köreltilmiştir. Çözeltilerin karıştırılmasında, ezilmesinde ve kaptan kaba aktarılmasında kullanılır.

Drigalski spatülü; cam çubuğun, ucunun üçgen şeklinde kıvrılması ile oluşan özelerdir (Resim 2.13). Tamamı cam olabileceği gibi tutma yeri metal, yayma yeri cam veya silikon kaplı camdan da yapılabilir. Ticari olarak hazırlanmış tek kullanımlık modelleri de mevcuttur.



Resim 2.13: Drigalski spatülü

Yayma yöntemiyle ekimde, sıvı numunenin petri kutusu içindeki katı besiyeri üzerine aktarılmasından sonra yüzeye homojen şekilde yayılmasında kullanılır.

2.1.2. Metal Malzemeler

Metal malzemelerde aranan genel özellikler asit, alkali ve oksitlenmeye dayanıklı olmalarıdır. Günümüzde, gıda laboratuvarında kullanılan metal malzemeler daha çok krom-nikel alaşımli demir malzemeler, alüminyum ve paslanmaz çelik malzemelerdir. Bunlar;

- Bek,
- Üç ayak,
- Kafesli tel,
- Örnek kapları,
- Maşa,
- Tüplük,
- Spatül,
- Pens,
- Öze sapı ve ucu,
- Boya teli,
- Pipet kutuları,
- Küvet takımları sayılabilir.

Özellikleri ve Kullanım Alanları;

Bek; hava gazı veya butangazla çalışan ve ayarlı alev verebilen bir araçtır. Mikrobiyoloji laboratuvarında bek;

- Alev çatısı oluşturma,
- Isıtma veya kaynatma
- Metal malzemelerin özellikle özelerin alevden geçirilmesinde ve akkor hâline getirerek sterilize edilmesinde kullanılır



Resim 2.14: Bek, üç ayak, kafesli tel

Üç ayak; bekte ısıtma veya kaynatma yapılacağı zaman gerekli olan bir malzemedir. Öncelikle üç ayak üzerine kafesli tel konular, üzerine beher veya erlen gibi malzeme yerleştirilir ve bek yakılarak amaca uygun kullanılır (Resim 2.14).

Kafesli tel; üç ayak üzerinde ısı dağıtıcı olarak kullanılır. Çıplak alevle direkt temas nedeniyle cam malzemelerin çatlama ve kırılmalarını önler (Resim 2.14).

Maşa; erlen, tüp vb. sıcak malzemenin taşınmasında kullanılır.

Halka; erlenlerin su banyosunda su içinde kalmasını sağlamak amacıyla kullanılır.

Tüplük; deney tüplerinin konulduğu 2 veya 3 katlı metal, tahta ve plastikten üretilen bir araçtır. Daha çok metal ve plastik olanlar kullanılır (Resim 2.15.).



Resim 2.15: Farklı tüplükler

Spatül; mikrobiyolojik analizler için numune ve kimyasal maddelerin alınması, tartımı, karıştırılması ve ezilmesinde kullanılır. Bir ucu kaşık şeklindedir (Resim 2.16).

Pens; paslanmaz metal malzemedir. Daha çok tartım sırasında ve cam tartı kaplarının tutulmasında kullanılır (Resim 2.17).



Resim 2.16: Spatül



Resim 2.17: Pens

Öze; numunelerin transferinde kullanılan, ucunda nikel-krom veya platinden yapılmış, yuvarlatılmış tel bulunan sap kısmı ısıdan etkilenmeyen bir malzemedir. Bu telin uzunluğu ortalama 5 cm, ucundaki çemberin çapı ise 3–4 mm olmalıdır. Uç kısmı halka şeklinde kıvrılmış platin veya paslanmaz telden, sapı da metal veya bakalitten oluşur. Bunlara yuvarlak uçlu öze de denir.

Mikrobiyolojik çalışmalarda üç tip öze kullanılmaktadır. Bunlar;

- **Tek kullanımlık steril plastik özeler;** yuvarlak uçlu öze veya iğne öze ile aynı amaçla kullanılır, plastikten yapılmıştır ve tek kullanımlıktır (Resim 2.18.).
- **Yuvarlak uçlu metal özeler;** çok az miktarda numuneyi aktarma işleminde, daha çok mikroorganizmaları besiyerine aktarıp, yaymak veya preparat hazırlamada kullanılır (Resim 2.19.).
- **İğne özeler;** özeye benzer, fakat telin ucu düzdür. İğne öze, besiyerine daldırma veya çizme yöntemleriyle ekim yapmak için ve yüzeyden mikroorganizma kolonisi almak amacıyla kullanılır (Resim 2.20.).



Resim 2.18: Plastik öze çeşitleri



Resim 2.19: Metal öze çeşitleri



Resim 2.20: İğne öze

Öze ile çalışma esnasında şu kurallara uyulmalıdır:

- Öze kalem gibi tutulmalıdır. Uç kısmı bek alevinin mavi kısmında dike yakın bir konumda, ucu tamamen kırmızı renk alıncaya (akkor) kadar tutulmalıdır (Resim.2.21). Bu sırada öze alev içerisinde sallanmamalıdır.



Resim 2.21: Özenin sterilize edilişi

- Daha sonra öze alev çatısı altında tutularak 10–15 saniye kadar soğuması için beklenmelidir. Öze ucunun sıcakken kullanımı örnekteki mikroorganizmaları öldürebilir.
- Numunenin alınacağı çözelti içerisine öze ucu daldırılarak karıştırma hareketi yapılır. Bu sayede çözeltinin öze ucundaki yuvarlak kısmı bir film gibi sarması sağlanır. Şayet sıvı örnek bu şekilde halkayı sarmamışsa öze ucu yanlış kıvrılmıştır. Öze ucu bek alevinde yakılarak düzeltilmelidir.
- Öze ucu tüpe hiç değdirilmeden dışarı çıkartılır.
- Katı besiyerindeki bir kültürden aktarma yapılacağı zaman, öze ucu üreme bölgesine hafifçe sürtülerek örnek alınır.
- Özeyle alınan numune katı veya sıvı besiyerine ekilir.
- Ekim işlemi bitince öze tekrar bek alevinde tutularak sterilize edilir.

Pipet kutusu; pipetlerin sterilize edilmesinde ve sterilize pipetlerin saklanması için kullanılır (Resim 2.22.).



Resim 2.22: Pipet ve petri kutusu

Küvet takımları; metal, cam, plastik olanları vardır. Dezenfektan kabı olarak veya preparat boyama işlemlerinde kullanılır.

Boya teli; preparat hazırlanırken boyama işleminde kullanılan cam veya metal malzemedir.

2.1.3. Diğer Araçlar

Mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan diğer araçlar eküvyon, puar, piset, plastik numune kapları ve havanlardır.

Günümüzde sert ve saydam plastikten spatül, silindir, huni, yanında tüp ve piset gibi malzemeler, tek kullanımlık petri kapları da üretilmektedir. Daha önceleri camdan yapılan pek çok malzeme plastikten üreilmeye başlanmıştır.

Özellikleri ve Kullanım Alanları;

Eküvyon; ucunda pamuk sarılı olan tahta, plastik veya metal çubuklardır. Tüp içinde bulunup sterilize edilenleri veya tek kullanımlık olanları vardır. Mikrobiyolojide yüzeylerden örnek alınmasında kullanılır (Resim 2.23.).



Resim.2.23: Eküvyon

Puar; pipetlerin arkasına takılarak, ağızla çekilmesi tehlikeli olan sıvı veya çözeltilerin, özellikle de patojen mikroorganizma içeren besiyerlerinin pipetlenmesinde kullanılır.



Resim 2.24: Puar

Havanlar; değişik büyüklükte olan havanlar, katı gıda örneklerinin mikrobiyolojik analize hazırlanmasında kullanılır (Resim 2.25.).



Resim 2.25: Porselen havan ve havan eli

Piset: Çoğunlukla plastikten üretilen saf su kaplarıdır (Resim 2.26.).



Resim 2.26: Piset

2.1.4. Laboratuvarda Kullanılan Ekipmanlar

Otoklav; gıda mikrobiyolojisi laboratuvarının en önemli cihazları arasındadır. Temel görevi basınç altında buharla sterilizasyondur. Değişik kapasite ve şekillerde, farklı marka ve modellerde otoklavlar bulunmaktadır (Resim 2.27).



Resim 2.27: Otoklav

Otoklav

- Besiyerleri ve dilüsyon çözeltilerinin sterilizasyonunda,
- Mikrobiyoloji laboratuvarı araç gereçlerinin sterilizasyonunda,
- Eski kültürlerin imha edilmesinde kullanılır.

Mikrobiyoloji laboratuvarında yanlış sonuçların alınmasında önemli faktörlerden biri otoklavın hatalı kullanılmasıdır.

İnkübatör; laboratuvarın çalışma yüküne ve kullanım amaçlarına göre farklı büyüklüklerde ve çeşitli özelliklerde olabilir. Mikrobiyolojik analizlerde besiyerine ekim yapıldıktan sonra uygun sıcaklık ve sürede ortam inkübatörlerle sağlanır (Resim 2.28).



Resim 2.28: İnkübatör

Sterilizatör; 0-300°C sıcaklık aralığına sahip etüvdür. Cam ve metal malzemelerin kurutulması ve sterilizasyonu amacıyla kullanılır. Yıkanmış cam malzemenin kurutulması için 50-60°C, cam ve metal malzemelerin sterilizasyonu için 180°C'deki sıcaklıklar uygulanır.

Saf su cihazı; besiyerleri ve çeşitli çözeltilerin hazırlanmasında, yıkanmış malzemelerin durulanmasında kullanılan saf suyun üretimini sağlar. Mikrobiyoloji laboratuvarında taze hazırlanmış ve pH'ı 6,5-7.5 olan suyun kullanılması önerilir (Resim 2.29.).



Resim 2.29: Saf su ve destile deiyonize saf su cihazları

Hassas terazi; genellikle 1/1000 g duyarlılıkta tartım yapan araçlardır. İstenilen miktarda tartım alma işlemlerinde kullanılır (Resim 2.30.).



Resim.2.30: Çeşitli hassas teraziler

pHmetre; besiyeri ve çözeltilerin pH ayarlamasında kullanılan araçlardır.

Su banyosu; 0-100°C sıcaklık aralığında termostatlı çift cidarlı araçlardır. Su banyosu;

- Besiyeri ve çözeltileri sterilize etmek,
- Agarlı besiyerlerinin sterilizasyon sonrası katılaşmasını önlemek,
- Katı besiyerlerinin yeniden eritmek,

- Özel çalışmalarda inkübasyon sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (Resim 2.31.).

Homojenizatörler; katı örneklerin ilk çözeltilerini yapmak için stomacher (steril torbalı peristaltik homojenizatör) (Resim 2.32.) veya blender (rotary homojenizatör) kullanılır.



Resim 2.31: Su banyosu



Resim. 2.32: Homojenizatör

Aşılama kabini; analiz edilecek ürüne dışarıdan toz ve mikroorganizma bulaşmasını önlemek amacıyla kullanılan kabinlerdir (Resim 2.33.).



Resim 2.33: Aşılama kabini

Karıştırıcılar; amaca uygun manyetik karıştırıcı ve tüp karıştırıcısı her mikrobiyoloji laboratuvarında bulunması gereken basit ancak önemli cihazlardır. Manyetik karıştırıcının ısıtıcı tablaya sahip olması tercih edilir. Tüp karıştırıcısı, ekimi yapılacak sıvı numunenin homojenizasyonunda kullanılır (Resim. 2.34.).



Resim 2.34: Manyetik karıştırıcı ve tüp karıştırıcı

Koloni sayıcı; panosuna petri kutusu yerleştirilerek koloni sayımının yapılabildiği araçtır. Aydınlatma, büyütme sistemleri bulunur. Numaratör sistemi bulunanları da vardır. (Resim 2.35).



Resim 2.35: Koloni Sayıcı

Laboratuvarın işlevine göre yeterli niteliklerde mikroskop veya binoküler mikroskop, mikrodalga fırın, membran filtrasyon seti, soğutucu (buzdolabı-derin dondurucu), UV, el lambası gibi araçlar da gıda mikrobiyoloji laboratuvarında bulunmalıdır.

2.2. Cam Malzemelerin Temizlenmesi

2.2.1. Yıkanması ve Durulanması

Gıda laboratuvarında yapılan analizlerin güvenilirliği, uygun cam malzeme seçimine ve temizliğine bağlıdır.

Cam malzemenin temizlenmesinde dikkat edilecek noktalar;

- Eğer kirletici maddeler suda kolayca çözünüyorsa soğuk veya sıcak su ile malzeme yıkanmalı, birkaç kez içten ve dıştan saf su ile durulanmalıdır.
- Kirletici madde cam yüzeyinde kurumuş ise malzeme su dolu bir kaba batırılarak, kirin yumuşatılması için bir süre bekletilmelidir.
- Kirletici madde suda çözünmüyorsa veya su ile yeterince temizlenemiyorsa, uygun temizleyici kimyasal madde seçilerek önce bu malzeme ile yıkanmalıdır, sonra bol su ile durulanmalıdır.

Pipetler, lam ve lameller kullanıldıktan sonra % 5'lik lizol gibi dezenfektan madde içeren bir kapta biriktirilir.

Cam malzemeden, özellikle pipetlerden deterjan ile çıkmayan organik kalıntılar sülfirik, kromik, nitrik asit gibi kuvvetli oksitleyici asitlerle temizlenebilir.

2.2.2. Temizleyici Kimyasalların Hazırlanması

- **Bikromatlı sülfirik asit (kromik-sülfirik asit) çözeltisi**; laboratuvarlarda en yaygın kullanılan çözeltilerdir. 40 g potasyum bikromat 5 l'lik cam kaba (ısı ve kimyasaldan etkilenmemesi için) konarak üzerine az miktarda su eklenerek eritilir. Yoğun sülfirik asit azar azar dökülerek 1 l'ye tamamlanır. Çözelti sarı-kahverengi arasındadır. Rengin yeşile dönmesi kirlendiğini gösterir.
- **Sulandırılmış nitrik asit**; kirletici maddelerin çöktürülmesinde kullanılan kurşunlu çözeltilerin, cam malzemelerin yüzeyinde oluşturduğu buğulanmış görünümü temizleyen bir kimyasal maddedir.
- **Seyreltik (1/10'lük) hidroklorik asit**; analizlerde kullanılacak cam malzemenin temizlenmesinde kullanılan başka bir kimyasal maddedir. Bunun için bir kısım konsantre HCl asit ile 9 kısım saf su karıştırılarak hazırlanır.

Laboratuvara yeni alınmış cam malzemeler ilk kullanıma alındıklarında temiz görünebilir. Buna rağmen bu malzemeler su ile yıkanarak veya bikromatlı sülfirik asit çözeltisi ile temizlenmelidir.

2.2.3. Saf Sudan Geçirilmesi

Cam malzemenin temizliği yapıldıktan sonra malzeme saf sudan geçirilir. Amaç; çeşme suyunda bulunan maddelerin analiz sonucunu etkilemesini engellemektir. Durulama suyunun dipte toplanıp kurumasına izin vermemek için durulanan cam malzemeler ters durumda süzölmeye bırakılmalıdır. Böylece hem daha çabuk kuruma sağlanır hem de dipte toplanan suya havadan mikroorganizma bulaşması engellenir.

2.3. Sterilizasyon

2.3.1. Tanımı

Bir ortamdaki tüm mikroorganizmaların öldürülmesi ya da ortamdaki uzaklaştırılması işlemine **sterilizasyon** denir. Sterilizasyon işlemi uygulanmış materyale **steril** denir. Steril kap, steril besiyeri vb.

2.3.2. Mikrobiyolojik Çalışmalarda Sterilizasyonun Önemi

Gıda mikrobiyolojisi laboratuvarında sonuçların güvenilir olması için laboratuvar çalışma kurallarına eksiksiz uyulması gerekir. Bunların en önemlisi de kullanılan bütün malzemenin sterilizasyonudur.

Besiyerleri, çözeltiler, cam malzeme vb. malzeme steril olmazsa bunlardan gelebilecek mikroorganizmalar gıdadan gelmiş gibi değerlendirilir.

Örneğin, cam malzemede önceki deneyden bir mikroorganizma bulaşması kalmışsa, yeni yapılan analizde de gıda örneği hijyenik kurallara uygun üretilse dahi mikrobiyel üreme görülecek ve gıdanın hatalı değerlendirilmesine neden olacaktır.

2.4. Cam Malzemenin Sterilizasyona Hazırlanması

İyice temizlenmiş tüp, pipet, balon, erlenmayer ve mezürlerin ağızları sıvıları emmeyen özel yağlı pamuk (kalaycı pamuğu) ile kapatılarak iinin kontamine olmaması sağlanır.

Tüpler;

- Pamuğun cam içinde kalan kısmı mümkün olduğu kadar lif uçları bulundurmuyacak şekilde katlanır.
- Pamuğun tüp içindeki kısmı 1.5-2 cm, dıştaki kısım ise 1 cm olmalıdır.
- Pamuktan tutulup çekildiğinde tüpü de kaldıracak sıklıkta olmalıdır.
- Ortamdan gelecek mikroorganizma kontaminasyonuna karşı pamuğun tüp dışında kalan kısmının çapı tüp çapından geniş olmalıdır.
- Pamukların uçları yakılarak pamuk lifleri uzaklaştırılmalıdır.

Pipetler;

- Pipetlerin sivri uçları kabın dibine gelecek şekilde madeni pipet kabı içine yerleştirilir ve kapağı kapatılır.
- Pipet uçlarının kırılmaması için metal kutunun dibine alüminyum folyo yerleştirilir.
- Pipet kutusu yoksa pipetler kâğıtlara sarılarak sterilizasyona hazırlanmalıdır.

Erlen ve balonlar;

Tüplerin pamuklanmasında dikkat edilecek hususlarla aynıdır.

Petri kutuları; yıkama, durulama, saf sudan geçirme ve kurulama işleminden sonra tek tek veya ikili, üçlü gruplar hâlinde kâğıtlara sarılarak veya kâğıda sarmadan özel metal kutulara gruplar hâlinde yerleştirilerek sterilizasyona hazır hâle getirilir.




2.5. Metal ve Porselen Malzemelerin Sterilizasyona Hazırlanması




Mikrobiyoloji laboratuvarındaki metal malzemeler; numune alınması sırasında spatül ve ekim aşamasında kullanılan iğne, öze gibi araçlardır. İğne, öze vb. araçlar her kullanım öncesi ve sonrasında bek alevinde akkor hâline gelinceye kadar tutularak, spatül ise kâğıda sarılarak etüv veya otoklavda sterilize edilir.


Porselen malzemeler de yıkanıp kurduktan sonra kâğıda sarılarak etüvde sterilizasyona bırakılır. Cam, metal, porselen malzemeyi sarmada samanlı kağıt veya parşömen kağıdı kullanılır.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aseptik tekniğe uygun olarak araç gereçleri sterilizasyona hazırlayınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>➤ Yıkama küvetine su doldurunuz.</p> 	
<p>➤ Yeterli deterjanı ilave ediniz.</p>	
<p>➤ Cam malzemeleri deterjanlı su ile fırçalayınız.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız ve dezenfekte ediniz.➤ Gerekli koruyucu malzemelerinizi giyiniz.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Çalışılan alan ve masaları temizleyiniz.
<p>➤ Yıkadığınız malzemeyi içi su dolu başka bir küvete bırakınız.</p> <p>➤ Malzemeler kirli ise bikromatlı sülfirik asit- kromik asit çözeltisinden geçirin ve durulayınız.</p> <p>➤ Duruladığınız malzemeyi içi saf su dolu başka bir küvete bırakınız.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Cam malzemenin temizlenmesi konusunu hatırlayınız.➤ Dikkatli çalışınız.➤ Kurutma için gerekirse etüv kullanınız.
<p>➤ Cam malzemeleri ters çevirerek kurutma askısına asınız.</p> 	
<p>➤ Sularının süzülmesini sağlayınız.</p>	

Temizlenmiş tüplerde:	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ağız kısımlarına sıvıları emmeyen özel yağlı pamukla usulüne uygun olarak tıkaç yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ “2.4. Cam Malzemenin Sterilizasyona Hazırlanması” başlıklı konuyu hatırlayınız. ➤ Dikkatli çalışınız. ➤ Zamanı iyi kullanınız ➤ Gözlemci olunuz. ➤ Sorumluluklarınızı tam olarak yerine getiriniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ağızları pamuklanmış tüpleri gruplar hâlinde kâğıtlara sarınız. 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Metal vida kapaklı tüplerin kapakları bir kaç diş açık kalacak şekilde hazırlayınız. 	
Temizlenmiş balon, erlenmayerlerde;	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ağızları gazlı bezle sarılmış pamuk tamponları ile kapatınız ➤ Sonra ağızları kağıt veya alüminyum folyo ile sarınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ekip çalışmasına yakın olunuz. ➤ Temizlik kurallarına uyunuz.
	
Temizlenmiş pipetlerde;	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pipetleri ya teker teker kâğıda sarınız ya 	
	
Temizlenmiş petri kutularında;	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Teker teker veya en çok üç tanesini kâğıtla usulüne uygun olarak sarınız. 	
	

<p>➤ Özel metal kutular varsa petrilerin kapakları aynı yöne gelecek şekilde yerleştiriniz.</p>	
<p>Temizlenmiş Metal ve Porselen Malzemeler;</p>	
<p>➤ Her birini usulüne uygun olarak kâğıtlara sarınız.</p> 	<p>➤ 2.5. Metal ve Porselen Malzemelerin Sterilizasyona Hazırlanması başlıklı konuyu hatırlayınız.</p> <p>➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.</p> <p>➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz.</p> <p>➤ Laboratuvar önlüğünüzü çıkarıp asınız.</p> <p>➤ Ellerinizi her çalışma sonrasında yıkayınız.</p> <p>➤ Koruyucu malzemelerinizi çıkarıp çöpe atınız</p> <p>➤ Laboratuvar son kontrollerinizi yapınız.</p>
<p>Zamanı iyi kullanınız</p> <p>Dikkatli çalışınız.</p> <p>Temizlik kurallarına uyunuz.</p>	

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki seçeneklerden doğru olanı işaretleyiniz.

1. Gıda mikrobiyolojisi laboratuvarında en çok kullanılan araç gereçler aşağıdakilerden hangisidir?
A) Plastik malzemeler
B) Cam malzemeler
C) Metal malzemeler
D) Kimyasal malzemeler
2. Sıvıların belli hacimlerde bir kaptan diğerine aktarılmasında kullanılan malzeme aşağıdakilerden hangisidir?
A) Erlen
B) Balon
C) Pipet
D) Deney tüpü
3. Dip kısmı geniş, ağız kısmı dar bir boğazla sona eren konik şekle yakın bir görünümüne sahip olan araç aşağıdakilerden hangisidir?
A) Beher
B) Balon
C) Silindir
D) Erlen
4. Mikrobiyolojik ve kimyasal analizler için numune alınmasında veya tartım esnasında kullanılan metal malzeme aşağıdakilerden hangisidir?
A) İğne
B) Petri kutusu
C) Spatül
D) Maşa

Aşağıdaki bilgi cümlelerinde bırakılan boşluklara tabloda verilen kelimelerden doğru olanını seçerek yazınız.

5. Pyrex cam sıcaklık ve dayanıklıdır.
6. mikroorganizmaları besiyerine ekmek veya preparat yapmak için kullanılır.
7. Mikrobiyoloji laboratuvarında besiyerinin nemli ısı ile sterilizasyonunda kullanılır.
8. Agarlı besiyerlerinin eritilmesinde kullanılmalıdır.

alkali	öze
su banyosu	otoklav
asit	etüv

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz.

Tüm sorulara doğru cevap verdiyseniz uygulama testine geçiniz.

UYGULAMALI TEST

Mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan pipetleri tek olarak sterilizasyona hazırlayınız. Yaptığınız uygulamayı kontrol listesine göre değerlendirerek eksik veya hatalı gördüğünüz davranışları tamamlama yoluna gidiniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Laboratuvar kıyafetlerinizi giydiniz mi?		
2. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
3. Yıkama küvetine su doldurdunuz mu?		
4. Yeterli deterjanı ilave ettiniz mi?		
5. Pipetleri deterjanlı su ile yıkadınız mı?		
6. Yıkadığınız pipetleri içi su dolu başka bir küvete bıraktınız mı?		
7. Pipetleri kirli ise bikromatlı sülfirik asit - kromik asit çözeltisinden geçirip duruladınız mı?		
8. Duruladığınız pipetleri içi saf su dolu başka bir küvete bıraktınız mı?		
9. Saf sudan geçirdikten sonra pipetlerin sularının süzülmesini sağlayıp kuruttunuz mu?		
10. Parşömen kâğıdı veya yağlı kağıttan ince şeritler kestiniz mi?		
11. Pipetleri uç kısmından başlayarak açılmayacak şekilde kâğıtla sardınız mı?		
12. Temizlikte kullandığınız araç gereçleri yerine kaldırdınız mı?		
13. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
14. Laboratuvarın son kontrollerini yaptınız mı?		
15. Önlüğünüzü çıkarıp yerine astınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yapılan değerlendirme sonunda “**Hayır**” şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Cevaplarınızın tamamı “**Evet**” ise bir sonraki faaliyete geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-3

AMAÇ

Bu faaliyet sonunda gerekli bilgileri alıp, uygun ortam, araç-gereç ve ekipman sağlandığında aseptik tekniğe uygun olarak analiz araç gereçlerinin sterilizasyonunu yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Sterilizasyon tanımı ve amacını araştırınız.
- Laboratuvarlarda kullanılan sterilizasyon yöntemlerini araştırınız.
- Sterilizasyon uygulamalarında karşılaşılabileceğiniz riskler ve alınabilecek önlemleri araştırınız.
- Araştırmalarınızı rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınız ile paylaşınız.

3. ANALİZ ARAÇ-GEREÇLERİNİN STERİLİZASYONU

3.1. Araç Gereçlerin Sterilizasyonu

Sterilizasyon tüm mikrobiyolojik çalışmalarda çok önemlidir. Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan tüm araç gereçlerin steril olması zorunludur. Aksi takdirde araç gereçte bulunan mikroorganizmalar analizi yapılan gıdaya bulaşacağından yanlış sonuç alınmasına neden olur. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında, besiyerleri, dilüsyon çözeltileri, pipetler, petri kutuları vb. malzemeler, özelliklerine göre farklı yöntemlerle sterilize edilir.

3.2. Sterilizasyon Yöntemleri

Aşağıdaki 4 yöntem yaygın olarak kullanılır;

➤ Isı uygulaması

- Alevden geçirme
- Alevde tutma
- Kuru sıcak havada bekletme
- Buharla sterilizasyon
 - Basınçlı buharla sterilizasyon (otoklavda)
 - Basınçsız buharla sterilizasyon
 - Kaynatma
 - Tindalizasyon
 - Doymuş su buharında tutmak

➤ Filtre ile sterilizasyon

➤ Kimyasal maddelerle sterilizasyon

➤ Radyasyon ile sterilizasyon

- İyonize radyasyon
- İyonize olmayan radyasyon

➤ Isı Uygulaması

- **Alevden geçirme;** analiz sırasında steril tüp, erlen, pipet ve balon gibi cam malzemelerin ağız kısımlarının açılıp kapanması esnasında kullanılan bir yöntemdir.
- **Alevde tutma;** yüzeyden kontaminasyonu önlemek amacıyla pens, öze, iğne gibi malzemelerin iki üç kez bunzen beki alevinden geçirilerek sterilize edilmesidir. Özeler kullanımdan önce ve kullandıktan sonra ucu akkor hâle gelinceye kadar bunzen beki alevinde tutulmalıdır.
- **Kuru sıcak havada bekletme;** genellikle sterilizasyona hazırlanmış boş ve temiz cam malzemeler ile metal malzemelerin sterilizatörde belli sıcaklık ve sürede tutularak sterilize edilmesidir.
- **Buharla Sterilizasyon**
 - **Basınçlı buharla sterilizasyon (yaş sterilizasyon);** kuru sıcak havada sterilize edilemeyen araç gereçler ile özellikle besiyerleri ve çeşitli çözeltilerin sterilize edilme yöntemidir. Bazı durumlarda sterilizasyona hazırlanmış boş, temiz malzemeler de otoklavda basınçlı buharla sterilize edilebilir.
 - **Basınçsız buharla sterilizasyon;**
- **Kaynatma;** otoklavda sterilize edilemeyecek ve yüksek sıcaklıkta yapısı bozulan bazı besiyerlerinin sterilize edilmesinde kullanılan yöntemdir. Bu tip besiyerleri bunzen beki alevinde, su banyosunda, mikrodalga fırında kaynatılarak sterilize edilir. Kaynatma ile yeterli bir sterilizasyon için merkez sıcaklığın 95-98°C'ye çıkması ve bu sıcaklıkta birkaç dakika kalması gerekir.

- **Tindalizasyon;** sıcaklığa duyarlı besiyerlerinin veya çözeltilerin 3 gün arka arkaya ısıtma ve soğutma ile sterilize edilmesi işlemidir. Su banyosunda 80°C'da 1 dakika tutulup oda sıcaklığında 1 saat beklenir. Sonra yine kaynar su banyosunda 95-98°C'de 30 dakika tutulur ve hızla soğutulup oda sıcaklığında 8 saat daha beklenir ve bu işlem iki kez daha uygulanır.
- **Doymuş su buharında tutmak;** doymuş su buharı elde edilen özel kazanlarda yapılır. Sterilizasyon süresi 100°C'de yaklaşık 90 dakikadır.
- **Filtre ile sterilizasyon;** bakterilerin geçemeyeceği kadar küçük gözenekleri olan özel filtrelerin kullanıldığı bir sterilizasyon yöntemidir. Düzenekte bulunan ekipman önceden sterilize edilmelidir. Filtrasyon tekniğinde sadece sıvılar değil hava da sterilize edilebilir. Bu amaçla en çok sinterlenmiş cam filtreler kullanılır.
- **Kimyasal maddelerle sterilizasyon;** mikrobiyoloji laboratuvarında daha çok tezgâhların dezenfeksiyonunda kullanılır. Çeşitli kimyasal maddeler mikroorganizmaları öldürür. Bu amaçla;
 - **Dezenfektanlar,**
 - **Antibiyotikler,**
 - **Boyalar kullanılmaktadır.**
- **Radyasyon ile sterilizasyon;** UV gibi ışınların kullanıldığı sterilizasyon yöntemidir. Maddede sıcaklık yükselmediğinden ışınlarla sterilizasyona **soğuk sterilizasyon** denir.
 - İyonize radyasyon; kullanırken yüksek risk nedeniyle özel güvenlik tedbirleri alınmasını gerektiren bir yöntemdir. Genel olarak radyasyon sterilizasyonu dendiğinde iyonize ışınlar kastedilir.
 - İyonize olmayan radyasyon; UV ışını ile yapılır. UV ışınları yüzeysel etkili olduğundan, tam sterilizasyon sağlamaz; sadece mikroorganizma sayısında azalma meydana getirir. Gıda işletmelerinde hava, su, araç gereç ve oda sterilizasyonunda kullanılır.

3.3. Kuru Sıcak Havada Bekletme (Kuru Sterilizasyon) İşlemleri

Mikrobiyoloji laboratuvarında cam ve metal malzemelerin sterilizasyonu için 180°C'de çalışan bir etüve ihtiyaç vardır. Etüvde sadece cam ve metal malzeme sterilize edilmeli, düzenli olarak temizlik yapılmalı, belirli aralıklarla da dezenfeksiyon yapılmalıdır.



Resim 3.1: Etüv

Etüvde sterilizasyon aşamaları;

- Araç gereçlerin sterilizasyona hazırlanması,
- Sterilizasyona hazırlanmış malzemelerin etüve uygun şekilde yerleştirilmesi,
- Etüvün çalıştırılması,
- Sterilizasyon sonunda etüvün boşaltılmasıdır.

3.3.1. Araç gereçlerin Sterilizasyona Hazırlanması

Öğrenme faaliyeti 2’de malzemelerin sterilizasyona hazırlanması konusunu hatırlayınız.

3.3.2. Sterilizasyona Hazırlanmış Malzemelerin Etüve Uygun Şekilde Yerleştirilmesi

- Etüvün en sıcak bölgesi alt ve üst duvarları, en soğuk bölgesi ise kapağa yakın yeridir. Yerleştirmede buna dikkat edilmelidir.
- Sterilize edilecek malzeme, hava sirkülasyonu sağlayacak şekilde yerleştirilmelidir.
- Paketlenmiş malzeme boyutları 10 x 10 x 30 cm’den daha büyük olmamalıdır.

3.3.3. Etüvün Çalıştırılması

- Normal doldurulmuş sterilizatörlerde sterilizasyon süresi 160°C’de 2 saat, 170°C’de 1-1.5 saattir.
- Etüv çalıştırılıp istenen sıcaklık termometrede görüldükten sonra sterilizasyon süresi başlatılır.
- Etüv çalışırken kapağı açılmamalıdır. Nedeni açıldığı anda sıcaklık düşecek ve sterilizasyon sağlıklı olarak yapılamayacaktır. Sıcakken kapağı açılacak olursa cam eşyalar ani sıcaklık değişimi nedeniyle çatlayabilir.
- Süre bitiminde etüv kapatılır.
- Soğuması için 1-2 saat kendi hâlinde bırakılır.

3.3.4. Sterilizasyon Sonunda Etüvün Boşaltılması

Sterilize edilmiş araç gereç soğuyup oda sıcaklığına geldikten sonra etüvden alınarak muhafaza edilmek üzere dolaplara kaldırılır.

3.4. Mikrodalga Fırında Sterilizasyon ve Kullanımı

Mikrodalgalar, radyan enerjinin elektromanyetik dalgalarıdır. Dalga boyları 0.025–0.75 cm, frekansları ise 400–20000 megahertz olan ışınlardır (bir megahertz saniyede bir milyon titreşim demektir).



Direkt alev, sıcak hava, sıcak buhar gibi ısıl işlemlerde ısı yüzeyden içeriye doğru ilerlerken mikrodalga ısıtmasında; ısı merkezden dışa doğru olmaktadır.

Otoklavla sterilizasyon zaman alır ve bazen sterilize edilecek malzemelere zarar verebilir. Filtre ile sterilizasyon ise pahalı ve az kullanılan bir yöntemdir. Bu nedenlerle sterilizasyonda mikrodalga fırında kullanılabilir.

Mikrodalga fırın daha çok besiyerlerinin eritilmesinde kullanılmaktadır.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarına göre cam ve metal malzemeleri sterilize ediniz.

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>➤ Verilen cam ve metal malzemeyi sterilizasyona hazırlayınız.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız ve dezenfekte ediniz.➤ Gerekli koruyucu malzemelerinizi giyiniz.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz.
<p>➤ Sterilizasyon hazırlığı yapılan cam, metal ve porselen malzemeleri uygun şekilde etüv raflarına yerleştiriniz ve etüv kapağını kapatınız.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ Etüv temizliğini kontrol ediniz.➤ Sterilizasyon hazırlığı yapılmış malzemeleri hava akımını engellemeyecek şekilde etüv raflarına yerleştirmeye özen gösteriniz.➤ Dikkatli çalışınız.➤ Sorumluluklarınızı tam olarak yerine getiriniz.
<p>➤ Etüvün sıcaklık derecesini 170°C'ye, zaman ayarını 1.5 saate ayarlayınız.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ Etüv kullanımı talimatına uyunuz.➤ Etüv sıcaklık ve süre ayarını kontrol ediniz.➤ Dikkatli çalışınız.➤ Zamanı iyi kullanınız.➤ Sorumluluklarınızı tam olarak yerine getiriniz.➤ Temizlik kurallarına uyunuz.
<p>➤ Etüvde 170°C'de 1.5 saat süreyle sterilize ediniz.</p> <ul style="list-style-type: none">• Etüv alarmlı ise alarm sesini duyunca etüvü kapatınız.• Etüv alarmlı değilse termostat düğmesi söndükten sonra bir saat süre tutunuz. Süre sonunda etüvü kapatınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Etüvün çalıştırılması konusunu hatırlayınız.➤ Dikkatli çalışınız.➤ Etüv çalışırken kapağını açmayınız.➤ Sterilizasyon süresini takip ediniz.

<p>➤ Sterilizasyon sonunda etüvü açmadan önce sıcaklığın düşmesini bekleyiniz.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Etüvün çalıştırılması konusunu hatırlayınız..➤ Dikkatli çalışınız.➤ Sorumluluklarınızı tam olarak yerine getiriniz.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz.➤ Laboratuvar önlüğünüzü çıkarıp asınız.➤ Ellerinizi her çalışma sonrasında yıkayınız.➤ Koruyucu malzemelerinizi çıkarıp çöpe atınız.➤ Laboratuvarda son kontrollerinizi yapınız.
--	--

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki seçeneklerden doğru olanı işaretleyiniz.

1. Aşağıdaki sterilizasyon yöntemlerinden hangisi ısı uygulamalarından **değildir**?
A) Tindalizasyon
B) Radyasyon
C) Basınçlı buhar
D) Kaynatma
2. Besiyerleri sterilizasyonu genellikle aşağıdakilerden hangisi ile **yapılmaz**?
A) Bunzen beki
B) Su banyosu
C) Mikrodalga fırın
D) Otoklav
3. Kimyasal maddelerle sterilizasyon yöntemi aşağıdakilerden hangisine uygulanır?
A) Besiyerleri
B) Tezgahlar
C) Laboratuvar araçları
D) Hava
4. Etüv kullanımında aşağıdakilerden hangisine dikkat edilmelidir?
A) Sıcaklık ve zaman ayarı
B) Hava sirkülasyonu
C) Paketlenmiş malzeme boyutları
D) Hepsi

Aşağıdaki cümlelerde verilen bilgiler doğru ise parantez içine (D), yanlış ise (Y) yazınız.

5. () Mikrodalga fırın daha çok besiyerlerini eritilmesinde kullanılmaktadır.
6. () Etüvde istenen sıcaklık termometrede görüldükten sonra sterilizasyon süresi başlatılır.
7. () Normal doldurulmuş sterilizatörlerde sterilizasyon süresi 160°C'de 1 saat, 170°C'de 1/2 saattir.

Aşağıdaki bilgi cümlelerinde bırakılan boşluklara tabloda verilen kelimelerden doğru olanını seçerek yazınız.

8. Etüvde sadece ve sterilize edilmelidir.
9. Işımlarla sterilizasyonda maddede sıcaklık yükselmediğinden denir.
10. Besiyeri veya çözeltilerin 3 gün arka arkaya ısıtma ve soğutma işleminden geçirilerek sterilize edilmesine denir.

kimyasal dezenfeksiyon
cam malzeme
besiyeri
tindalizasyon
metal malzeme
soğuk sterilizasyon

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz

Tüm sorulara doğru cevap verdiyseniz uygulama testine geçiniz.

UYGULAMALI TEST

Erlenleri sterilizasyona hazırlayıp etüvde sterilize ediniz. Yaptığınız uygulamayı kontrol listesine göre değerlendirerek, eksik veya hatalı gördüğünüz davranışları tamamlama yoluna gidiniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Laboratuvar kıyafetlerinizi giydiniz mi?		
2. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
3. Yıkama küvetine su doldurdunuz mu?		
4. Yeterli deterjanı ilave ettiniz mi?		
5. Erlenleri deterjanlı su ile fırçalayarak yıkadınız mı?		
6. Yıkadığınız erlenleri içi su dolu başka bir küvete bıraktınız mı?		
7. Erlenleri kirli ise bikromatlı sülfirik asit- kromik asit çözeltisinden geçirdiniz ve duruladınız mı?		
8. Duruladığınız erlenleri içi saf su dolu başka bir küvete bıraktınız mı?		
9. Saf sudan geçirdikten sonra erlenleri askıya asarak sularının süzülmesini sağlayıp kuruttunuz mu?		
10. Kuru erlenlerin ağız kısmına gazlı bezle sarılmış pamuk tamponları yerleştirdiniz mi?		
11. Erlenlerin ağızlarını alüminyum folyo ile sardınız mı?		
12. Sterilizasyon hazırlığı yapılan erlenleri etüvde hava akımını engellemeyecek şekilde etüv raflarına yerleştirdiniz mi?		
13. Etüv kapağını kapattınız mı?		
14. Etüv sıcaklık derecesini 170°C'ye, zamanı 1.5 saate ayarladınız mı?		
15. Süre ve sıcaklığı kontrol ettiniz mi?		
16. Alarm çaldığı zaman etüvü kapattınız mı?		
17. Sterilizasyon sonunda etüvü açmadan önce sıcaklığın düşmesini beklediniz mi?		
18. Sterilize malzemeleri etüvden çıkarıp uygun dolaba yerleştirdiniz mi?		
19. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
20. Laboratuvarın son kontrollerini yaptınız mı?		
21. Önlüğünüzü çıkarıp yerine astınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yapılan değerlendirme sonunda **Hayır** şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Cevaplarınızın tamamı **Evet** ise bir sonraki faaliyete geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-4

AMAÇ

Bu faaliyet sonunda gerekli bilgileri alıp, uygun ortam, araç-gereç ve ekipman sağlandığında formülasyona uygun olarak seyreltme çözeltilerini (dilüsyon sıvısı) hazırlayabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Seyreltme çözeltilerinin (dilüsyon sıvıları) mikroorganizmalar üzerine etkisini araştırınız.
- Seyreltme çözeltileri çeşitlerini ve kullanım amaçlarını araştırınız.
- Araştırma sonuçlarını rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

4. DİLÜSYON (SEYRELTME) ÇÖZELTİSİ HAZIRLAMA

4.1. Tanımı ve Önemi

Seyreltme yapma, mikrobiyolojik yönden incelemeye alınan orijinal örnek içindeki mikroorganizma sayısının belli oranlarda seyreltilerek (dilüe edilerek) daha aza indirilmesini amaçlayan bir işlemdir. Bu amaçla kullanılan sıvılara **dilüsyon çözeltisi (seyreltme sıvısı)** denir.

Seyreltmede iki husus çok önemlidir. Bunlar seyreltme çözeltisinin seçimi ve seyreltme oranıdır. Seyreltme çözeltisinin mikrobiyal sayı üzerinde bir değişikliğe neden olmaması gerekir. Bu amaçla en yaygın kullanılan seyreltme çözeltileri;

- Fizyolojik tuzlu su,
- Peptonlu su,
- Tamponlanmış peptonlu su,
- Peptonlu fizyolojik tuzlu su,
- 1/4 Ringer çözeltisidir.
- Seyreltme çözeltisi olarak en fazla fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılır.
- 1/4 Ringer çözeltisi süt ve süt ürünlerinin seyreltilmesinde kullanılır.

- Şekerli bir gıdada ozmofil (yüksek osmotik basınca dayanıklı) maya aranacak ise seyreltmede % 20'lik sakkaroz çözeltisi kullanılması mikroorganizmaları olumsuzluklardan korur.
- Halofil (tuzlu ortamda yaşayabilen) mikroorganizmaların aranacağı zaman, gıdanın tuz oranına yakın konsantrasyonda NaCl'li su ile seyreltme yapılmalıdır.

Seyreltme yapmanın amacı, petri kutusunda sayılabilecek (30-300 arasında) koloni elde edilecek şekilde ekimin yapılabilmesidir. Bu işlemin yararı petri kutusunda fazla koloni oluşturmadan sayımı kolaylaştırmaktır. Örneğin 1 g yoğurttta 1.000.000 adet/gr bakteri varsa, 1 g yoğurdun petri kutusuna ekimi hâlinde sayılamayacak kadar çok koloni oluşur. Bu nedenle canlı mikroorganizma sayısı yüksek olan örneklerde ekim, seyreltme tekniği ile yapılır.

4.2. Seyreltmede Kullanılan Çözeltiler

4.2.1. Fizyolojik Tuzlu Su (Serum Fizyolojik-FTS)

Osmotik basıncı mikroorganizmaların osmotik basıncına eşdeğer %0.85-0.90'luk tuzlu sudur. Hazırlanışı:

- 8.5 g sodyum klorür 1000 ml damıtık su (saf su) içinde çözdürülür.
- Test tüplerine veya erlenmayere ve balon gibi cam kaplara gerekli miktarlarda (9 ml, 90 ml vb.) dağıtılır.
- Sterilizasyona hazırlanır.

4.2.2. Peptonlu Su (% 0.1)

Genel amaçlı bir seyreltme çözeltisidir. Hazırlanışı:

- 1 g pepton 1000 ml damıtık su çözeltisi içinde çözüdürülür.
- pH = 7.0'a ayarlanır.
- Tüplere veya erlenmayere gerekli miktarlarda (9 ml, 90 ml vb) dağıtılır.
- Sterilizasyona hazırlanır.

4.2.3. Tamponlanmış Peptonlu Su

Belirli sınırlar arasında asitlik ve alkalilik değişimlerine karşı koyma özelliğine sahip çözeltiler **tampon çözeltiler** olarak tanımlanır. Bunlar genellikle zayıf asit veya bazlarla bunların kuvvetli tuzlarının karışımıdır. Tampon olarak en çok kullanılan maddeler, fosfatlar (KH_2PO_4 , KH_2PO_4 , Na_2HPO_4), karbonatlar, asetat ve sitratlardır.

Tamponlanmış peptonlu çözeltiler çok özel bakterilerle çalışıldığında kullanılır. Ekim yapıncaya kadar geçen sürede tamponlanmış peptonlu çözelti, mikroorganizmaların hücre yapısında bir değişiklik meydana gelmeden stabil kalmasını sağlar.

Hazır tampon maddelerin kullanımı pratik ve güvenilirdir. Sıvı hâldeliklerin son kullanım tarihleri göz önüne alınmalı, özellikle tablet veya en azından toz hâlinde bulunanlar bu açıdan tercih edilmelidir.

Bileşimi;

- **pepton** 10.0 g/L;
- **NaCl** (sodyum klorür) 5.0 g/L;
- **Na₂HPO₄·12H₂O** (disodyumhidrojen fosfat) 9.0 g/L;
- **K₂HPO₄** (potasyum dihidrojen fosfat) 1.5 g/L şeklindedir.

Hazırlanışı;

- Toz ya da tablet ticari tampon maddeden 25.5 g/L tartılır.
- Hazır tablet bulunmadığında, bileşenler istenen hacme göre hesaplanarak tartılır.
- Balonjojeye aktarılarak saf su içinde çözündürülür.
- pH 25 °C 'da 7.2±0.2 olmalıdır. pH metre veya pH kâğıtları ile ölçülür. pH= 7.2±0.2 den düşükse baz çözeltisi ile, pH =7.2±0.2 den büyükse asit çözeltisi ile ayarlanır.
- 500 ml'lik erlenlere 250'şer ml olacak şekilde ya da diğer hacimlerde uygun cam malzemeye dağıtılır.
- Hazırlanmış tampon çözelti berrak ve sarı renklidir.
- Sterilizasyon hazırlıkları yapılır.
- Tüp ve erlenlere hazırlama bilgileri yazılır.

Belli hacimde hazırlanan tampon çözelti saf ve taze suyla hazırlandıktan sonra küçük hacimli, temiz ve ağzı kapalı polimerik kaplara, üzerinde hava boşluğu kalmayacak şekilde bölünerek + 4°C'de ve karanlıkta saklanmalıdır. Tercihen oda sıcaklığına geldikten sonra veya sıcaklık düzeltmesi ile kullanılmalıdır. Tampon çözeltinin küçük hacimleri bir kez kullanıldıktan sonra atılmalıdır.

Uyarı: Tamponlanmış Peptonlu Su genel amaçlı besiyeri olarak da kullanılmaktadır. Seyreltme amacı ile kullanılan peptonlu su bileşimi ile *Salmonella* analizinde ön zenginleştirme için kullanılan "Tamponlanmış Peptonlu Su" bileşimi çok farklıdır. Tamponlanmış Peptonlu Su canlandırma ya da seyreltme amacı ile kullanılacak ise mutlaka 25.5 g/L konsantrasyonda hazırlanmalıdır.

4.2.4. Peptonlu Fizyolojik Tuzlu Su

Ekim süresinin uzaması durumunda mikroorganizmaların zarar görmesini önlemek için kullanılan seyreltme çözeltilisidir.

Hazırlanışı:

- 10 g pepton, 5 g sodyum klorür, 9 g disodyumhidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) ve 1.5 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) 1000 ml damıtık su içinde çözündürülür.
- pH= 7.0'a ayarlanır.
- Tüplere veya erlenmayerlere gerekli miktarlarda (9 ml, 90 ml vb.) dağıtılır.
- Sterilizasyona hazırlanır.

4.2.5. 1/4 Kuvvetinde Ringer Çözeltisi

Osmotik basınç nedeniyle zarar görmüş mikroorganizmalar veya osmotik basınca duyarlı bakteriler için kullanılan seyreltme çözeltilisidir.

Hazırlanışı:

- 2.25 g sodyum klorür, 0.105 g potasyum klorür, 0.12 g kalsiyum klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ve 0.05 g sodyum hidrojen karbonat (Na H CO_3), 1000 ml damıtık su içinde çözündürülür.
- pH= 7.0'a ayarlanır.
- Tüplere veya erlenmayerlere gerekli miktarlarda (9 ml, 90 ml vb) dağıtılır.
- Sterilizasyona hazırlanır.

4.2.6. % 15'lik Sodyum Klorür Çözeltisi

Bu çözelti halofilik mikroorganizmaların teşhis ve sayımlarında dilüsyon sıvısı olarak kullanılır.

Hazırlanışı:

- 150 g sodyum klorür üzerine damıtık sudan azar azar eklenerek 1000 ml'ye tamamlanır ve çözündürülür.
- Tüplere veya erlenmayerlere gerekli miktarlarda (9 ml, 90 ml vb) dağıtılır.
- Sterilizasyona hazırlanır.

4.2.7. % 20'lik Sakkaroz Çözeltisi

Osmofilik veya osmotolerant mikroorganizmalarla ilgili çalışmalarda dilüsyon sıvısı olarak yararlanır. Hazırlanışı:

- 200 g sakkaroz üzerine damıtık sudan azar azar eklenerek 1000 ml'ye tamamlanır ve çözündürülür.
- Tüplere veya erlenmayerlere gerekli miktarlarda (9 ml, 90 ml vb) dağıtılır.
- Sterilizasyona hazırlanır.

4.3. Dilüsyon Çözeltisi Hazırlarken Dikkat Edilecek Noktalar

- Dilüsyon sıvısının seçiminde, incelenecek örnekteki osmotik basınç ile dilüsyon sıvısının osmotik basıncının birbirine yakın olmasına dikkat edilmelidir.
- Tartımlar hassas terazide titizlikle yapılmalıdır.
- Su miktarı doğru olarak alınmalıdır.
- Çözelti balonjojede hazırlanmalıdır.
- Katı maddelerin sıvı içerisinde tamamen çözünmesi sağlanmalıdır.
- Dilüsyon sıvıları daha sonra kullanılacaksa buzdolabında saklanmalıdır.

4.4. Dilüsyon Çözeltisi Hazırlama Hesaplamaları

Belirlenen miktarda seyreltme çözeltisi hazırlamak için;

- Reçeteye göre bileşen miktarları hesaplanır,
- Hesaplanan miktarlarda tartım yapılır,
- Tartılan miktarlar balonjojeye aktarılıp, bir miktar saf su ile çözündürülür,
- Daha sonra balonjoje, çizgisine kadar saf su ile tamamlanır.

Örnek hesaplamalar;

- **250 ml FTS Hazırlama:**

$$\begin{array}{r} 1000 \text{ ml FTS için} \\ \underline{250 \text{ ml FTS için}} \\ x = 250 \times 8,5 / 1000 = 2.125 \text{ g NaCl tartılır} \end{array} \quad \begin{array}{r} 8.5 \text{ g NaCl tartılırsa} \\ \underline{x \text{ gr tartılır}} \end{array}$$

250 ml'lik balonjojeye aktarılır. Bir miktar saf su ile NaCl çözündürülür, NaCl tamamen çözüldükten sonra balonjojenin ölçü çizgisine kadar saf su ile tamamlanır.

➤ 500 ml 1/4 Kuvvetinde Ringer Çözeltisi Hazırlama

1000 ml 1/4 kuvvetinde Ringer çözeltisinin bileşiminde 2.25 g NaCl + 0.105 g KCl + 0.12 g CaCl₂ + 0.05 g NaHCO₃ vardır. Her bileşen için ayrı ayrı hesaplama yapılır.

$$\begin{array}{r} 1000 \text{ ml Ringer çözeltisi için} \quad 2.25 \text{ g NaCl tartılırsa} \\ \underline{500 \text{ ml Ringer çözeltisi için} \quad X \text{ g NaCl tartılır.}} \\ x = 500 \times 2.25 / 1000 = 1.125 \text{ g NaCl} \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 1000 \text{ ml Ringer çözeltisi için} \quad 0.105 \text{ g KCl tartılırsa} \\ \underline{500 \text{ ml Ringer çözeltisi için} \quad X \text{ g KCl tartılır.}} \\ x = 500 \times 0.105 / 1000 = 0.0525 \text{ g KCl} \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 1000 \text{ ml Ringer çözeltisi için} \quad 0.12 \text{ g CaCl}_2 \text{ tartılırsa} \\ \underline{500 \text{ ml Ringer çözeltisi için} \quad X \text{ g CaCl}_2 \text{ tartılır.}} \\ x = 500 \times 0.12 / 1000 = 0.06 \text{ g CaCl}_2 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 1000 \text{ ml Ringer çözeltisi için} \quad 0.05 \text{ g NaHCO}_3 \text{ tartılırsa} \\ \underline{500 \text{ ml Ringer çözeltisi için} \quad X \text{ g NaHCO}_3 \text{ tartılır.}} \\ x = 500 \times 0.05 / 1000 = 0.025 \text{ g NaHCO}_3 \end{array}$$

1.125 g NaCl + 0.0525 g KCl + 0.06 g CaCl₂ + 0.025 g NaHCO₃ ayrı ayrı tartularak 500 ml'lik balonjojeye aktarılır. Bir miktar saf su ile bileşenler çözündürülür, bileşenler tamamen çözüldükten sonra balonjojenin ölçü çizgisine kadar saf su ile tamamlanır.

4.5. Sterilizasyona Hazırlık

Cam malzemenin sterilizasyonunda olduğu gibi seyreltme çözeltisi aktarılan erlen ve tüpler yağlı pamuk ile kapatıldıktan sonra alüminyum folyolarla sarılarak tüpler tüplüklere yerleştirilir. Erlen ve tüplükler otoklav sepetine yerleştirilerek sterilizasyona bırakılır.




Resim 4.1: Otoklav sepeti





Resim 4.2: Otoklav

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarına göre, 500 ml'lik peptonlu FTS çözeltisi hazırlayınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Hazırlanacak miktara göre sodyum klorür miktarını hesaplayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız ve dezenfekte ediniz.➤ Gerekli koruyucu malzemelerinizi giyiniz.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz.➤ Çalışılan alan ve masaları temizleyiniz.➤ Standart formülü yazınız.➤ Orantıyı doğru kurmaya özen gösteriniz.➤ Matematik işlemlerinizi kontrol ediniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Hesaplanan miktarda pepton, sodyum klorür, disodyumhidrojen fosfat, potasyum dihidrojen fosfat tartımlarını yapınız. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Gerekli kimyasalları tezgah üzerine çıkarınız.➤ Spatülü, tartım kabını hazırlayınız.➤ Hassas teraziyi önceden ayarlayınız.➤ Tartım kabının darasını almayı unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Tartılan bileşenleri 500 ml'lik balonjojeye aktarınız.	
<ul style="list-style-type: none">➤ Balonjojeye bir miktar yeni hazırlanmış saf su ekleyerek bileşenlerin çözünmesini sağlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Bileşenler tamamen çözünmelidir.
<ul style="list-style-type: none">➤ Bileşenlerin tamamı çözüldükten sonra balonjojenin ölçü çizgisine kadar saf su ile ekleyiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Balonjojeye saf su eklerken ölçü çizgisine yaklaşıldığında daha dikkatli olunuz.➤ Sıvı okuma kurallarına uyunuz.➤ Temizlik kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Peptonlu FTS çözeltisi pH'ını ölçünüz ve 7.0'a ayarlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Önceden pHmetreyi kalibre ediniz.

	
<p>➤ Tüplere 9'ar ml , erlen ve balonlara 90 ml peptonlu fizyolojik suyu dağıttınız.</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tüplere aktarımı tüplükte ve pipet yardımıyla yapınız. ➤ Zamanı iyi kullanınız. ➤ Sorumluluklarınızı tam olarak yerine getiriniz.
<p>➤ Tüp ve erlenlerin ağızlarını pamuklayıp, folyoladıktan sonra tüplüklere yerleştiriniz.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cam Malzemenin Sterilizasyona Hazırlanması başlığındaki konuyu hatırlayınız. ➤ Tüp ve erlenmayerin ağızını anlatıldığı gibi pamuklayıp alüminyum folyo ile sarınız. ➤ Tüp ve erlenlerin üzerine gerekli bilgileri cam kalemiyle yazmayı unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tüp ve erlenlerin üzerine gerekli bilgileri cam kalemiyle yazınız. ➤ Tüp ve erlenleri otoklav sepetine ve sepeti de otoklava yerleştiriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz. ➤ Laboratuvar önlüğünüzü çıkarıp asınız. ➤ Ellerinizi her çalışma sonrasında yıkayınız. ➤ Koruyucu malzemelerinizi çıkarıp çöpe atınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Çalışma ortamını temizleyiniz. ➤ Laboratuvar son kontrollerinizi yapınız. 	

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki seçeneklerden doğru olanı işaretleyiniz.

1. % 0.9 luk NaCl içeren seyreltme çözeltisi aşağıdakilerden hangisidir?
A) ¼ kuvvetinde ringer çözeltisi
B) Fizyolojik su (FTS)
C) Peptonlu su (% 0.1)
D) Peptonlu fizyolojik su,
2. Seyreltme işleminin amacı aşağıdakilerden hangisidir?
A) Mikroorganizmanın üremesi için ortam hazırlamak
B) Mikroorganizma sayısını arttırmak
C) Petri kutusunda sayılabilecek düzeyde koloni oluşturmak
D) Örnek orjinalliğini korumak
3. 500 ml FTS çözeltisi hazırlamak için kaç g NaCl tartılmalıdır?
A) 2.125 g
B) 8.5 g
C) 4.25 g
D) 1.00 g
4. Ölçü çizgisine kadar saf su ile tamamlama
A) Hesaplanan miktarlarda tartım yapma
B) Bileşenleri balonjojeye kayıpsız aktarma
C) Belirlenen hacme göre hesaplama yapma
D) Saf su ile çözündürme
5. Seyreltme çözeltisi hazırlama aşamaları hangi seçenekte doğru sıralanmıştır?
A) 2-5-3-4-1
B) 5-2-4-3-1
C) 4-2-3-5-1
D) 3-2-4-5-1
6. Tuza dayanıklı mikroorganizmalar için hangi seyreltme çözeltisi kullanılmalıdır?
A) % 15'lik NaCl çözeltisi
B) Peptonlu su
C) Peptonlu fizyolojik su
D) 1/4 kuvvetinde Ringer çözeltisi
7. Aşağıdakilerden hangisi tampon olarak kullanılan maddelerden **değildir**?
A) Damıtık su
B) Sitratlar
C) Karbonatlar
D) Fosfatlar

8. Aşağıdakilerden hangisi tamponlanmış peptonlu çözeltilerin özelliğidir?
- A) Asitlik ve bazlık değişmelerine karşı direnir
 - B) Az miktarda kuvvetli asit veya kuvvetli baz ilavesiyle pH'ı yaklaşık olarak sabit kalır.
 - C) Tamponlanmış peptonlu çözeltiler içinde seyreltilen mikroorganizmalar stabil kalır.
 - D) Hepsi

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz.

Tüm sorulara doğru cevap verdiyseniz uygulama testine geçiniz.

UYGULAMALI TEST

250 ml peptonlu su hazırlayınız. Yaptığınız uygulamayı kontrol listesine göre değerlendirerek, eksik veya hatalı gördüğünüz davranışları tamamlama yoluna gidiniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Laboratuvar kıyafetlerinizi giydiniz mi?		
2. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
3. Yeterli saf suyunuz var mı?		
4. 250 ml peptonlu su için gerekli pepton miktarını hesapladınız mı?		
5. Tartılan peptonu 250 ml'lik balonjojeye kayıpsız ktardınız mı?		
6. Balonjojeye bir miktar yeni hazırlanmış saf su ekleyerek peptonun çözünmesini sağladınız mı?		
7. Balonjojenin ölçü çizgisine kadar saf su eklediniz mi?		
8. pHmetreyi kalibre ettiniz mi?		
9. Peptonlu su çözeltisinin pH'ını ölçüp 7.0'a ayarladınız mı?		
10. Pipet yardımıyla tüplere 9'ar ml , erlen ve balonlara 90 ml peptonlu su		
11. dağıttınız mı?		
12. Tüp ve erlenlerin ağızlarını pamuklayıp, folyoladıktan sonra tüplüklere yerleştirdiniz mi?		
13. Tüp ve erlenlerin üzerine gerekli bilgileri cam kalemiyle yazdınız mı?		
14. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
15. Laboratuvarın son kontrollerini yaptınız mı?		
16. Önlüğünüzü çıkarıp yerine astınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yapılan değerlendirme sonunda “Hayır” şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Cevaplarınızda tereddütleriniz varsa öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Cevaplarınızın tamamı “Evet” ise bir sonraki faaliyete geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-5

AMAÇ

Bu faaliyet sonunda gerekli bilgileri alıp, uygun ortam, araç-gereç ve ekipman sağlandığında formülasyona uygun olarak hazırlanan çözeltilerin sterilizasyonunu yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Sterilizasyonda kullanılan otoklav çeşitlerini araştırınız.
- Laboratuvarda otoklav yerinin seçimi ve güvenlik tedbirlerini araştırınız.
- Araştırmalarınızı sınıf arkadaşlarınız ile paylaşınız.

5. ÇÖZELTİLERİN STERİLİZASYONU

5.1. Basıncılı Buhar (Otoklav) ile Sterilizasyon

Bu yöntemde otoklav denen aletler kullanılır. Kaynama derecesi 100°C olan suyun sıcaklığı ancak basınç altında yükseltilebilir. Kapalı bir kap içinde basınç arttıkça su, sıvı fazını koruyabilir. Otoklav, elde edilen buharın kontrollü basınç altında kullanımını sağlar.

Otoklavın temel görevi; basınç altında buharla sterilizasyondur. Mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkiyi basınç değil, doymuş su buharı ile elde edilen yüksek sıcaklık meydana getirmektedir.

Otoklavda sterilizasyon için genel olarak 121°C’de 15-20 dakikalık bir süre yeterli olmaktadır. Çünkü *Clostridium* ve *Bacillus*’ların sporları ancak 121°C’de 15 dakikada yok olmaktadır.

- Sterilizasyon süresi;
 - Sterilize edilecek materyalin hacmi,
 - Dolduruluş şekli gibi değişik faktörlerden etkilenir.
- Sıcaklık derecesi ise ;
 - Sterilize edilecek materyalin özelliğine,
 - Materyalin içine konduğu kabın tipine,
 - Sterilize edilecek materyalin hacmine bağlı olarak değişir.

Otoklav çift cidarlı buhar odasıdır. Hava gazı veya elektrikle çalışır. Yatay ve dik tipleri bulunmaktadır (Resim 5.1.).



Resim 5.1: Otoklav çeşitleri

Sterilize edilecek malzemenin hacmine göre 121° C’deki otoklavlama süresi;

Kap cinsi	Sıvı Hacmi	Süre (dakika)
Test tüpleri	5 – 15 ml	15
500 ml erlen	250 – 300 ml	20
1000 ml erlen	500 – 750 ml	25
2000 ml erlen	1000 – 1500 ml	30

Otoklava malzemeler yerleştirilirken delikli tel sepetlere konulmalıdır. Delikli sepet kullanılmadığı zaman sterilizasyon gerçekleşemez. Sepet buhar dolaşımını engellemeyecek şekilde yerleştirilmelidir.

Besiyerleri, dilüsyon sıvıları, çeşitli çözeltiler, konserve gibi gıdalar hazırlandıkları cam ve metal kaplarda otoklavda sterilize edilir.

Otoklavda sterilize edilecek besiyeri ve çözeltiler ile kullanılmış ve yıkanmak üzere sterilize edilecek malzeme beraberce otoklavlanmamalı, bu amaçla iki farklı otoklav kullanılmalıdır.

5.2. Otoklavın Kullanımı ve Basınçlı Buhar İşlemleri

Klasik tip otoklav kullanımı aşağıdaki gibidir


- Otoklav kontrol edilir.
- Suyu eksikse saf su ile su seviye göstergesine kadar tamamlanır.
- İstenen sıcaklık derecesi ayarlanır.
- Sterilize edilecek çözelti tel sepetlere yerleştirilerek otoklava yerleştirilir.
- Otoklavın kapağı kapatılır ve vidaları sıkıştırılır.
- Otoklav çalıştırılır.
- Otoklavın havasını almak için buhar çıkış vanası sonuna kadar açılır.
- Otoklavın termometresi 90°C'yi gösterdiğinde buhar çıkış vanası kapatılır.
- Otoklavın manometresi gözlenir.
- Otoklav otomat yaptığında ayarlanan sıcaklık derecesine ulaşılmış demektir ve istenen sterilizasyon süresi tutulur.
- Süre tamamlanınca otoklav kapatılır.
- Manometre göstergesi 0°C'ye düştüğünde otoklavın kapağı açılır.
- Kısa bir süre beklendikten sonra tel sepetlerdeki sterilize edilmiş malzeme dışarı alınır.

Otomatik (Dijital) otoklav kullanımı aşağıdaki gibidir

- Açma-kapama düğmesi açılır.
- Sıcaklık derecesi, süre ve basınç ayarlanır.
- Progamdan su seviye göstergesine bakılarak, minimumda ise damıtık suyla ve su seviye göstergesine kadar suyu tamamlanır.
- Sterilize edilecek materyal otoklava yerleştirilir.
- Kapak kapatılır ve dijital ekranda uyarı lambası sönüncüye kadar karşılıklı vidalar sıkıştırılır.
- Dijital ekrandan süre, basınç ve sıcaklık bakılarak kontrol edilir. Ayarlanmış sıcaklık derecesine ulaşıldığında otoklav otomat yapar. Süre dolunca otoklav devreden çıkarılır. Monometre göstergesinin (0)'a inmesi beklenir.
- Kapak açılarak kısa süre beklenir. Sterilize edilmiş malzemeler saklanmak üzere dışarı alınır.
- Fiř çekilerek otoklavın kullanım talimatına göre su boşaltılır.
- Raflar temizlenir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Hazırlanan seyreltme çözeltilisini aşağıdaki işlem basamaklarına göre sterilize ediniz

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Otoklavın açma-kapama düğmesi açınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız ve dezenfekte ediniz.➤ Gerekli koruyucu malzemelerinizi giyiniz.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz.➤ Çalışılan alan ve masaları temizleyiniz.➤ Cam Malzemenin Sterilizasyona Hazırlanması başlığındaki konuyu hatırlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ 121°C sıcaklık, 15 -20 dakika süre ve 1 atm basınca ayarlayınız. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Dikkatli ve titiz çalışınız.➤ Zamanı iyi kullanınız.➤ Sorumluluklarınızı tam olarak yerine getiriniz.➤ Temizlik kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Otoklavın su seviyesini kontrol ediniz.➤ Minimumda ise ayarlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Progamdan su seviye göstergesine bakınız.➤ Minimumda ise damıtık suyla su seviye göstergesine kadar suyu tamamlayınız.➤ 5.1. ve 5.2. başlıklı konuları hatırlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Sterilize edilecek ağızları pamuklanmış ve folyolanmış erlen ve balonları otoklava yerleştiriniz.➤ Otoklav kapağını usulüne uygun olarak kapatınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Malzemeyi yerleştirirken buharın serbestçe dolaşımına engel olmamasına dikkat ediniz.➤ Tüplerin ağzını pamuklayıp alüminyum folyo ile sarmayı unutmayınız.➤ Tüp ve erlenlerin üzerine gerekli bilgileri cam kalemiyle yazmayı unutmayınız.➤ Otoklavın vidalarını karşılıklı olarak eşit şekilde çeviriniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Dijital ekranda uyarı lambası sönünceye kadar karşılıklı vidaları sıkıştırınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Otoklavı devreye alınız.➤ Temizlik kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Otoklavın havasını boşaltınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Otoklavda bulunan havayı boşaltınız.➤ Hava kalırsa, istenen sıcaklık derecesine ulaşamaz.➤ Termometre 90° C'yi gösterince, buhar çıkış vanası çok az buhar çıkışına izin verilecek şekilde kapatınız.

<ul style="list-style-type: none">➤ Sıcaklık 121° C'ye ulaşıncı 15-30 dakika süre tutunuz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Ayarlanmış sıcaklık derecesine ulaşıldığında alet otomat yapar. Bu noktadan itibaren süre tutunuz.➤ Sorumluluklarınızı tam olarak yerine getiriniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Süre sonunda otoklavı devreden çıkararak basıncın düşmesini bekleyiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Süre dolunca otoklavı devreden çıkarınız.➤ Monometre göstergesinin (0)'a inmesini bekleyiniz.➤ Eğer otoklavda otomatik bir hava boşaltma sistemi yoksa buhar çıkış vanasını açık tutunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Otoklavın kapakğını açınız ve sterilize edilmiş materyali dışarı alınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Kapağı açarak kısa süre bekleyiniz.➤ Sterilize edilmiş materyali dışarı alınız. (Kapağı açmada acele edilirse besiyerleri ani basınç farklılaşması nedeniyle kaplardan dışarı fıskırabilir).
<ul style="list-style-type: none">➤ Çalışma ortamını temizleyerek laboratuvarı son kontrollerinizi yapınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz.➤ Laboratuvar önlüğünüzü çıkarıp asınız.➤ Ellerinizi her çalışma sonrasında yıkayınız.➤ Koruyucu malzemelerinizi çıkarıp çöpe atınız➤ Laboratuvar kontrollerini yapmayı unutmayınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki seçeneklerden doğru olanı işaretleyiniz.

- Aşağıdakilerden hangisi otoklavın özelliklerinden **değildir**?
 - Otoklav çift cidarlı buhar odasıdır.
 - Hava gazı veya elektrikle çalışır.
 - Yatay ve dik tipleri bulunmaktadır.
 - Kuru ısıyla sterilizasyon sağlar.
- Otoklavın temel görevi aşağıdakilerden hangisidir?
 - Otoklav içindeki suyun kaynama derecesini 100°C'ye kadar çıkarmak
 - Basınç altında buharla sterilizasyon
 - Otoklav içindeki basıncın etkisiyle mikroorganizmaları öldürmek
 - Suyun sıvı fazını korumak
- Aşağıdakilerden hangisi sterilize edilecek materyalin otoklavlanma süresini etkileyen faktörlerden biri **değildir**?
 - Kap cinsi
 - Sıvı hacmi
 - Basınç
 - Çözeltinin cinsi
- Süre sonunda otoklavı devreden çıkarılması,
 - Sıcaklık 121°C'ye ulaşıncaya 15-30 dakika süre tutulması,
 - Otoklavın havasının boşaltılması,
 - Otoklav kapağının usulüne uygun olarak kapatılması,
 - Otoklavın çalıştırılması,
 - Otoklav kapağını açarak sterilize edilmiş materyalin dışarı alınması.

Otoklavın çalıştırılmasında doğru sıralama aşağıdakilerden hangisidir?

 - 4, 5, 3, 2, 1, 6
 - 5, 3, 4, 2, 6, 1
 - 1, 2, 3, 4, 5, 6
 - 4, 5, 2, 1, 3, 6
- Otoklavda çözeltilerin sterilizasyonu için hangisi doğru verilmiştir?
 - 121°C /1 saat
 - 90°C / 15 -20 dk
 - 180°C/1 saat
 - 121°C/15 -20 dk

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığımız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz. Tüm sorulara doğru cevap verdiyseniz uygulama testine geçiniz.

UYGULAMALI TEST

Hazırlanmış tampon çözeltiyi sterilize ediniz. Yaptığınız uygulamayı kontrol listesine göre değerlendirerek, eksik veya hatalı gördüğünüz davranışları tamamlama yoluna gidiniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Laboratuvar kıyafetlerinizi giydiniz mi?		
2. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
3. Ağızları pamuklanmış ve folyolanmış cam tüpleri tel sepetlere koydunuz mu?		
4. Ağızları pamuklanmış ve folyolanmış erlen ve balonu otoklavın ızgarasına yerleştirdiniz mi?		
5. Malzemeyi yerleştirirken buharın dolaşımına engel olmamasına dikkat ettiniz mi?		
6. Otoklav kapağını usulüne uygun olarak kapattınız mı?		
7. Otoklavın sıcaklığını 121°C'ye ayarladınız mı?		
8. Otoklavı çalıştırdınız mı?		
9. Otoklavın havasını boşalttınız mı?		
10. Sıcaklık 121° C'a ulaşıncaya 15-20 dakika süre tuttunuz mu?		
11. Süre sonunda otoklavı devreden çıkararak basıncın (0)'a düşmesini beklediniz mi?		
12. Otoklav kapağını açarak sterilize edilmiş metaryeli dışarı aldınız mı?		
13. Kullandığınız araç gereçleri temizleyip kaldırdınız mı?		
14. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
15. Laboratuvar son kontrollerinizi yaptınız mı?		
16. Önlüğünüzü çıkarıp astınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yapılan değerlendirme sonunda “**Hayır**” şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Cevaplarınızın tamamı “**Evet**” ise bir sonraki faaliyete geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-6

AMAÇ

Bu faaliyet sonunda gerekli bilgileri alıp, uygun ortam, araç-gereç ve ekipman sağlandığında sterilizasyon kurallarına uygun olarak steril materyalleri saklayabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Çevrenizdeki mikrobiyoloji laboratuvarlarına giderek steril malzemeleri nasıl muhafaza ettiklerini gözlemleyiniz.
- Steril malzemeleri muhafaza ilkelerini araştırınız.
- Gözlem ve araştırma sonuçlarınızı dosyalayınız. Sınıf arkadaşlarınızla paylaşınız.

6. STERİL MALZEMELERİN SAKLANMASI

6.1. Steril Malzemeleri Saklama İlkeleri

Temel amaç, sterilize edilmiş malzemelerin sterilliğinin muhafaza edilmesidir. Steril olan ve olmayan malzeme ayrı dolaplarda depolanmalıdır.

- Sterilize edilmiş çözeltiler, temiz ve dezenfekte edilmiş buzdolabında saklanmalıdır.
- Cam, metal, porselen malzemeler, temiz ve dezenfekte edilmiş dolaplara yerleştirilmelidir.

6.1.1. Steril Çözeltileri Saklama

Çözeltiler sterilize edildikten sonra (otoklav kullanımını ve uygulamayı hatırlayınız) otoklav sepetinden alınarak dezenfekte edilmiş tezgâh üzerinde konur. Bir süre oda sıcaklığına gelmesi beklenir. Oda sıcaklığına geldikten sonra mikrobiyoloji laboratuvarında bulunan buzdolabına kaldırılır.

Buzdolabına yerleştirme sırasında ilk giren ilk çıkar ilkesine uygun davranılmalıdır. Bunun için tüp ve erlenler üzerine cam yazar kalemle yazılmış tarih, çözelti adı, hazırlayan kişi gibi bilgilerin rahat görülebileceği şekilde yerleştirilmesine dikkat edilmelidir (Resim 6.1).



Resim 6.1: Buzdolabı içi



Resim 6.2: Tezgâh altı dolap

6.1.2. Cam, Metal ve Porselen Malzemeleri Saklama

Etiv tekrar kullanılmayacaksa; cam, metal ve porselen malzeme sterilizasyon işleminden sonra burada saklanabilir. Sterilize edilmiş cam, metal ve porselen malzemeler laboratuvarında bulunan dolaplara yerleştirilmelidir.

Laboratuvar araçlarının dolaplara yerleştirilmesinde şunlara dikkat edilmelidir:

- Daha sık kullanılan malzemeler kolay ulaşılabilir şekilde yerleştirilmelidir.
- Malzemeler çeşitlerine göre sınıflandırılmalıdır.
- Dolapların üzerine, içinde bulunan malzemenin çeşidi yazılmalıdır. Bu yerleştirme ve kullanım kolaylığı ile miktar kontrolünün yapılmasını sağlar (Resim 6.2).

Dolap kapağı üzerinde içinde steril malzeme bulunduğuna dair yazı olmalıdır (Resim 6.3).



Resim 6.3: Steril malzeme dolabı

6.2. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Buzdolabı Kullanım Kuralları

Buzdolabı, mikrobiyoloji laboratuvarının önemli ekipmanlarından birisidir. Steril çözeltiler, besiyerleri ve besiyeri kimyasallarının muhafaza edilmesi amacıyla kullanılır.

Mikrobiyoloji laboratuvarında buzdolabının kullanımı kadar yerinin seçimi de önemlidir. Buzdolabı buhar ve ısıdan etkilenmeyecek şekilde yerleştirilmelidir.



Belirli aralıklarla buzdolabında bulunan malzemelerin son kullanma tarihi, miktar kontrolleri yapılmalıdır. Kullanım sıklığı ve yoğunluğuna göre haftada veya on beş günde bir temizlik ve dezenfeksiyon işlemi uygulanmalıdır (Resim 6.4).



Resim 6.4: Buzdolabı içi

UYGULAMA FAALİYETİ

Sterilize edilmiş FTS çözeltilisini ve pipetleri kurallarına uygun olarak muhafaza etmek için aşağıdaki işlem basamaklarını uygulayınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>➤ Çözeltileri temiz buzdolabına kaldırınız.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız ve dezenfekte ediniz.➤ Gerekli koruyucu malzemelerinizi giyiniz.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz.➤ Buzdolabının temiz ve dezenfekte olduğundan emin olunuz.➤ Hava akımı sağlayacak şekilde yerleştiriniz.➤ Zamani iyi kullanınız.
<p>➤ Steril pipetleri kuru, temiz bir dolapta muhafaza ediniz.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ Açılmış paketler varsa steril pipetlerden ayırınız.➤ Temizlik kurallarına uyunuz.➤ Dikkatli çalışınız.➤ Sorumluluklarınızı tam olarak yerine getiriniz.
<p>➤ Etüv yeniden kullanılmıyacaksa sterilizasyon işlemi tamamlanmış cam malzemeyi etüvde bırakabilirsiniz.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Kullanılan araç gereçleri temizleyiniz.➤ Laboratuvar önlüğünüzü çıkarıp asınız.➤ Ellerinizi her çalışma sonrasında yıkayınız.➤ Koruyucu malzemelerinizi çıkarıp çöpe atınız.➤ Laboratuvarda son kontrollerinizi yapınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki cümlelerde verilen bilgiler doğru ise parantez içine (D), yanlış ise (Y) yazınız.

1. () Steril materyalin saklanması temel amaç sterilize edilmiş malzemenin sterilizasyonun zarar görmemesidir.
2. () Steril materyal kullanılıncaya kadar otoklavda bekletilebilir.
3. () Dolapların üzerine, içinde bulunan malzemenin çeşidinin yazılması yerleştirme ve kullanım kolaylığı sağlar.

Aşağıdaki çoktan seçmeli soruların doğru seçeneğini işaretleyiniz.

4. Buzdolabı kullanımında dikkat edilecek hususlardan **değildir?**
 - A) İlk giren ilk çıkar ilkesine uygun davranılmalıdır.
 - B) Otoklavdan alınan çözeltiler bekletilmeden buzdolabına kaldırılmalıdır.
 - C) Buzdolabına yerleştirilecek materyal üzerine cam yazar kalemle bilgiler yazılmalıdır.
 - D) Sterilize edilmiş cam, metal ve porselen malzemeler buzdolabına yerleştirilmez.
5.
 1. Steril çözelti muhafazası
 2. Besiyeri kimyasallarının muhafazası
 3. Besiyeri muhafazası
 4. Steril pipetlerin muhafazası

Yukarıdakilerden hangisi ya da hangileri mikrobiyoloji laboratuvarında buzdolabı kullanım amaçlarından değildir?

- A) Yalnız 1
 - B) Yalnız 4
 - C) 1, 2 ve 3
 - D) 1, 2, 3 ve 4
6. Laboratuvar araçlarının dolaplara yerleştirilmesinde dikkat edilecek hususlardan **değildir?**
 - A) Kolay ulaşılabilir olması,
 - B) Malzemenin çeşidine göre sınıflandırma yapılarak yerleştirilmesi,
 - C) Dolapların 15 günde bir yeniden yerleştirilmesi,
 - D) Dolapların üzerine, içinde bulunan malzemenin çeşidinin yazılması,

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz. Tüm sorulara doğru cevap verdiğinizde uygulama testine geçiniz.

UYGULAMALI TEST

Sterilize edilmiş tamponlu peptonlu su ve besiyerlerini, cam, metal malzemeleri muhafaza ediniz. Yaptığınız uygulamayı kontrol listesine göre değerlendirerek, eksik veya hatalı gördüğünüz davranışları tamamlama yoluna gidiniz.

Değerlendirme Ölçütleri		Evet	Hayır
1.	Laboratuvar önlüğünüzü giydiniz mi?		
2.	Çalışma ortamını temizlediniz mi?		
3.	Buzdolabınızın temiz ve dezenfekte edilmiş olduğunu kontrol ettiniz mi?		
4.	Çözeltilerin üst bilgilerinin ve kapak folyolarının olup olmadığını kontrol ettiniz mi?		
5.	Hava akımı sağlayacak şekilde yerleştirdiniz mi?		
6.	Buzdolabı kullanım kurallarına uygun olarak yerleştirme yaptınız mı?		
7.	Açılmış paketler varsa steril petri paketlerinden ayırdınız mı?		
8.	Steril pipetleri kuru, temiz bir dolapa yerleştirdiniz mi?		
9.	Dolap kapağı veya çekmece üzerinde içinde bulunanlar hakkında bilgilendirici yazı var mı?		
10.	Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
11.	Laboratuvar kontrollerinizi son kez yaptınız mı?		
12.	Önlüğünüzü çıkarıp astınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yapılan değerlendirme sonunda “Hayır” şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Cevaplarınızın tamamı “Evet” ise bir sonraki faaliyete geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-7

AMAÇ

Bu faaliyet sonunda gerekli bilgileri alıp, uygun ortam, araç-gereç ve ekipman sağlandığında aseptik tekniğine uygun olarak aseptik çalışma yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Aseptik teknik ve sterilizasyon arasındaki ilişkiyi yorumlayınız.
- Araştırmalarınızı sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

7. ASEPTİK ÇALIŞMA TEKNİĞİ

Sepsi canlı doku ve ortamlarda mikroorganizma bulunması, asepsi ise doku ve ortamlardan mikroorganizmaların uzaklaştırılması ve arındırılmasıdır. Mikrobiyoloji uygulamalarının güvenilirliği ancak aseptik teknikle sağlanır.

Aseptik tekniğin amaçları şunlardır:

- Çevreden, istenmeyen ve incelemeyi yanıtacak mikroorganizmaların incelenecek kültürlerle bulaşmasını önlemek,
- Kültürün karışık bir kültür hâlini almasını engellemek,
- Kültürde bulunabilecek patojen mikroorganizmaların çevreye ve laboratuvar personeline bulaşmasını önlemektir.

Mikrobiyoloji laboratuvarında kontaminasyon tehlikesi her zaman vardır. Çünkü mikroorganizmalar vücudumuzda ve çevremizde hemen her ortamda bulunmaktadır.

Mikrobiyolojik çalışmalarda hem dışarıdan hem de kullanılan malzemelerden gelebilecek, istenmeyen mikroorganizmaların girişinin engellenmesi gerekir. Bu da yalnızca steril ortamlarda, steril malzemelerde ve steril çalışma ile mümkündür.

Aseptik çalışmada dikkat edilecek noktalar aşağıdaki gibidir:

- Kullanılacak besiyerleri, bütün cam ve metal ekipman kullanımdan önce ve sonra sterilize edilmelidir (2. ve 3. faaliyetteki bilgileri hatırlayınız veya tekrar okuyunuz).
- Mikroorganizma ve incelenecek örnek bir ortamdan diğerine aktarılırken sterilizasyona dikkat edilmelidir (2. ve 3. faaliyetteki bilgileri hatırlayınız veya tekrar okuyunuz).
- Çalışmalar her zaman alev altında yapılmalıdır. Örneğin, öze her kullanımdan önce ve sonra bunzen beki alevinde akkor hâline gelinceye kadar yakılmalıdır (Resim 7.1).



Resim.7.1: Alev altında sterilizasyon

7.1. Bek Altında Çalışma

Yukarıdaki nedenlerle mikrobiyoloji laboratuvarında her zaman alev altında çalışılmalıdır. Bunzen beki ile çalışırken çok dikkatli olmak gerekir. Laboratuvarda bekle çalışma sırasında meydana gelen kazalar çok tehlikeli sonuçlara neden olabilir. Mikrobiyoloji laboratuvarında bunzen beki ile çalışma aynı zamanda sterilizasyon yöntemlerinden birisidir.

Laboratuvarda bunzen beki ile çalışmada aşağıdaki işlemlere dikkat edilmelidir

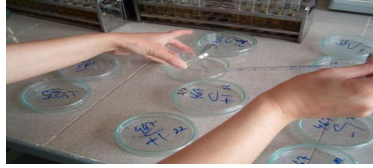
- Çalışmaya başlamadan önce hortum ve vana bağlantıları gaz kaçağı açısından kontrol edilmelidir.
- Mikrobiyolojik çalışmaya başlamadan önce laboratuvar tezgâhlarının dezenfeksiyon etkisinin artırılması için kullanılmalıdır.
- Laboratuvarda çalışma süresince bunzen bek açık tutulmalıdır.
- Çalışma sırasında bek yanında alev alıcı, parlayıcı maddeler bulunmamalıdır.

7.2. Aktarma Teknikleri

Mikrobiyolojide aktarma denildiğinde;

- Öze ile tüpten tüpe,
- Öze ile tüpten petri kutusuna,
- Öze ile petri kutusundan tüpe,
- Pipetle tüpten tüpe,
- Pipetle tüpten petri kutusuna (Resim 7.2.),
- Direkt aktarım

söz konusudur.



Resim 7.2: Pipetle petri kutusuna aktarma

Aktarma Sırasında Dikkat Edilecek Hususlar Şunlardır:

- Aktarma sırasında kullanılacak araç gereçler (öze, pipet gibi) mutlaka sterilize edilmiş olmalıdır. Sterilize edilmemiş öze ve pipet numuneye ya da besiyerine daldırılmamalıdır.
- Aktarmada kullanılacak pipetler, sterilize edilmiş olarak pipet kutusunda veya kâğıda sarılmış olarak muhafaza edilir. Usulüne uygun olarak bunzen beki alev çatısı altında çıkarılır ve alevden seri olarak geçirilerek aktarma işleminde kullanılır. Kullanılan pipetler, içinde dezenfektan çözelti bulunan bir kaba konur. Öze ise kullanıldıktan sonra da alevde tutularak sterilize edilir
- Aktarma işlemi esnasında, besiyerlerinin ve aktarma yapılacak numunenin bulunduğu cam kapların (tüp, balon, erlenmayer gibi) ağız kısımları, kullanımdan önce ve sonra mutlaka bunzen beki alevinden geçirilmelidir. Bu sayede kapların ağız kısımlarından girebilecek mikroorganizmalar uzaklaştırılmış olur.
- Cam malzemeler alevden geçirilirken kapak veya pamuk tıkaç, pipet ya da öze tutan elin küçük ve yüzük parmaklarıyla usulüne uygun olarak çıkartılıp avuç içinde tutulur. Kesinlikle yüzeylere bırakılmaz.
- Aktarma mümkün olan en hızlı şekilde gerçekleştirilir.
- Aktarma işlemi tamamlanınca kabın ağız alevden geçirilerek kapak ya da pamuk tıkaç yerleştirilir.

Not: Bu konuda detaylı bilgi ‘‘Kültür Elde Etme’’ modülünde verilecektir.

7.3. Çalışma Ortamını Dezenfekte Etme

Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan araç gereçlerin sterilizasyonu yanı sıra çalışılan ortamın sterilizasyon ve dezenfeksiyonuda oldukça önemlidir. Çevreden oluşabilecek bulaşları önlemek ve aseptik bir ortam oluşturmak amacıyla çalışma ortamı sterilize veya dezenfekte edilir.

7.3.1. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kullanılan Dezenfektanlar ve Özellikleri

Bazı kimyasal çözeltiler ile bunların gaz ve buharları, sterilizasyon ve dezenfeksiyon amacıyla kullanılır.

Dezenfeksiyon patojen mikroorganizmaların yüzeylerden arındırılması işlemidir.

Sterilizasyon ve dezenfeksiyon amacıyla kullanılan kimyasal maddeler;

- Ortamdaki mikroorganizmaların cins ve türü,
- Mikroorganizma yükü,
- İstenen sterilizasyon gücü,
- Materyalin özellikleri,
- Ortam sıcaklığı,
- Temas süresi gibi faktörlere bağlı olarak kullanılmaktadır.

Genel olarak, bir kimyasal maddenin dezenfeksiyon etkinliği arttıkça, toksiklik ve korozyon (aşındırıcı) gibi kullanımda istenmeyen özellikleri de artar.

Dezenfektanın etkisi;

- Kimyasal bileşiğin konsantrasyonu,
- Temas süresi,
- pH,
- Sıcaklık,
- Nem
- Organik maddelerin varlığına göre değişiklik gösterir.

Mikrobiyoloji laboratuvarında yaygın olarak kullanılan dezenfektan maddeler şunlardır:

- **Alkoller:** % 70 konsantrasyonlu etil alkol veya izopropil alkol genellikle yüzeylerin sterilizasyonu için kullanılır. Alkol mutlaka saf su ile karıştırılarak hacimce % 70 - 80 konsantrasyonda kullanılmalıdır. Saf alkol hacimce % 70 konsantrasyondaki alkole göre daha zayıf etki gösterir.
- **Formaldehit:** % 5 konsantrasyonlu formaldehit çözeltisi, bina veya odalarda yüzey sterilizasyonunda etkin bir şekilde kullanılır. Formaldehit, zehirli buharı nedeniyle hazırlanması ve kullanımı aşamasında dikkatli çalışılmalıdır.
- **Klor:** Tüm bakterilere, bakteri sporlarına etkili olabilen en yaygın kullanılan dezenfektan maddedir. Gaz halinde iken çok tehlikelidir. Bu yüzden genellikle sıvı hâlde kullanılır. Gereğinden yüksek konsantrasyonda çözelti hazırlanırsa metal yüzeylerde kuvvetli korozif etki yapar. Klor çözeltileri zamanla etkilerini kaybederler. Bu nedenle taze hazırlanmış çözeltiler kullanılmalıdır. 525 ppm klor çözeltisine % 0.7 düzeyinde iyonik olmayan bir deterjan ilave edilirse daha kuvvetli dezenfektan etki sağlanır.
- **İyot bileşikleri:** Laboratuvarında en yaygın kullanılan dezenfektanlardandır. 75 - 100 ppm iyot konsantrasyonu, yüzey ya da suyun dezenfeksiyonunda etkin olarak kullanılmaktadır. % 50'lik alkol içinde 1600 ppm konsantrasyonlu iyot çözeltisi pek çok bakteri ve bakteri sporları üzerinde hızlı etki gösterir.
- **Peroksitler:** Hidrojen peroksitin (H_2O_2) % 3'lük seyreltik çözeltisi ellerin temizlenmesi amacıyla kullanılabilir. Ancak zayıf antimikrobiyal etkisi vardır. Düşük pH'da yüksek konsantrasyondaki hidrojen peroksit etkin bir dezenfektandır.

7.3.2. Dezenfektanların Hazırlanması ve Kullanılmasında Dikkat Edilecek Noktalar

- Dezenfektanların kimyasal madde olduğu unutulmamalıdır.
- Kullanılan kimyasal maddenin toksiklik ve koroziflik etkileri unutulmamalıdır.
- Dezenfektanın uygulanan yüzeye temas süresi ve uygulama sıcaklığı önemlidir.
- Dezenfektanlar bekleme süresinde etkilerini kaybettiğinden her zaman taze hazırlanmalıdır.
- Dezenfektan hazırlamada konsantrasyon oranlarının doğru olmasına dikkat edilmelidir.
- Kimyasallar puar yardımıyla çekilmelidir.
- Dezenfektan maddeleri ışıktan korumak için koyu cam şişelerde saklamak gerekir.
- Ticari dezenfektanların ambalajı üzerindeki talimatlar her aşamada çok dikkatli uygulanmalıdır.
- Materyalin özelliklerine göre dezenfektan seçilmelidir.

7.3.3. Laboratuvarda Zemin Dezenfeksiyonu

- Laboratuvar ortamında tozlanma olmaması için yerler süpürülmemelidir.
- Paspas sadece laboratuvarda kullanılmalıdır.
- Zemin belirli konsantrasyondaki klorlu bileşikler hazırlanarak silinmelidir.
- Zeminin kirlilik derecesine göre gerektiğinde dezenfektan çözeltisi değiştirilebilir.

7.3.4. Tezgâh ve Masaların Dezenfeksiyonu

- Çalışmaya başlamadan önce tezgâh ve masa temizlenmelidir.
- Daha sonra % 70'lik alkol veya özel ticari dezenfektanlar ile silinmelidir (Resim 7.3).




Resim 7. 3: Tezgah için spreysel dezenfektan


- UV lambası olan ortamlarda, 30 dakika veya 1 saat UV lambası çalıştırılarak ortam ve masa dezenfeksiyonu işlemine devam edilmelidir.
- UV lambası çalışırken laboratuvara girilmemelidir.
- UV lambası kapatıldıktan sonra laboratuvara girilerek bunzen beki açılmalı ve çalışma süresinde açık bırakılmalıdır.

UYGULAMA FAALİYETİ

Laboratuvarda aseptik çalışma için aşağıdaki işlem basamaklarını uygulayınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
Günlük temizlikte;	
<p>➤ Çalışılan alan ve masaları temizleyiniz.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar kıyafetlerinizi giyiniz.➤ Ellerinizi her çalışma öncesinde yıkayınız ve dezenfekte ediniz.➤ Gerekli koruyucu malzemelerinizi giyiniz.➤ Çalışma ortamını temizleyiniz.➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz.➤ Çalışılan alan ve masaları temizleyiniz.➤ Temizlik araçlarını sadece laboratuvarda kullanınız.➤ Temizlik kurallarına uyunuz.
<p>➤ Dezenfektanlı su ile zemini siliniz.</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvarda kullanılan paspası hazırlayınız.➤ Kovaya su doldurunuz.➤ Klor çözeltilisini ilave ediniz.➤ Zemin temizliğini yapınız.➤ Zamanı iyi kullanınız.
<p>➤ % 70'lik alkol çözeltisi ile tezgâhı dezenfekte ediniz.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ % 70'lik alkol ile tezgâhları siliniz.➤ Varsa UV lambasını açınız.➤ Dikkatli olunuz.
<p>➤ Alevden zarar görmeyecek yüzeylerde yüzeye alkol döküp yakınız.</p> 	<ul style="list-style-type: none">➤ Fayans yüzeylerde alkol dökerek yakabilirsiniz.➤ Yangına karşı önlem alınız.➤ Zamanı iyi kullanınız.

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dezenfektan çözeltisini talimatlara göre hazırlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ticari dezenfektanların etiketinde yazan talimatları çok dikkatli okuyunuz ve uygulayınız. ➤ Zamanı iyi kullanınız. ➤ Sorumluluklarınızı tam olarak yerine getiriniz .
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kullandığınız dezenfektanları yerine kaldırınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dezenfektanlarla işiniz bittikten sonra kapaklarını çok iyi kapatınız. ➤ Dezenfektanları tezgâh altında bulunan dolaplara kaldırınız. ➤ Dikkatli çalışınız . ➤ Ellerinizi her çalışma sonrasında yıkayınız. ➤ Koriyucu malzemelerinizi çıkarıp çöpe atınız. ➤ Çalışma ortamını temizleyiniz. ➤ Kullanılan araç ve gereçleri temizleyiniz. ➤ Laboratuvar önlüğünüzü çıkarıp asınız. ➤ Laboratuvar son kontrollerinizi yapınız.
Aseptik çalışmak için;	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dezenfekte ettiğiniz ortamda bek alevini yakarak alev çatısı oluşturunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kibrit veya çakmağı hazır bulundurunuz. ➤ Gazı açınız. ➤ Dikkatli bir şekilde yakınız. ➤ Alev kontrolü yapınız.
Pipetle tüpten tüpe veya erlenden erlene aktarma yapmak için;	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Alev çatısı altında pipeti pipet kutusundan çıkarınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sol elinizle pipet kutusunu tutunuz. ➤ Sağ elinizin serçe ve baş parmağı ile pipet kutusunun kapağını açınız. ➤ Pipet kutusunun ağız kısmını alevden geçiriniz. ➤ Kapağı elinizden bırakmadan pipeti çıkarınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pipet uçlarını alevden geçiriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pipet kutusunun kapağını alevden geçirerek kapatınız. ➤ Pipet kutusunu tezgâh üzerine çalışmalarınızda engel olmayacak şekilde bırakınız.

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tüp veya erlenin ağzını alevden geçirerek pipeti daldırınız. ➤ İstenilen hacmi alıp tüp veya erlenin ağzını tekrar alevden geçirerek pamuğu kapatınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tüp veya erleni sol elinize alınız. ➤ Sağ elinizin serçe parmağı ve avuç ayası ile tüüpteki veya erlendeki pamuğu çıkarınız ve yere bırakmayarak elinizde tutunuz. ➤ Tüp veya erlenin ağzını elinizi yakmadan alevden geçiriniz. ➤ Pipeti sağ eliniz işaret, orta ve baş parmağı ile tutarak tüp veya erlene daldırınız. ➤ Pipete sıvıyı dikkatli çekiniz. ➤ Pipetin ağzını işaret parmağınızla kapatınız. ➤ Pipeti parmaklarınız arasında dikkatli şekilde tutunuz. ➤ Sağ elinizin serçe parmağı ve avuç ayası ile tuttuğunuz pamuğu tüp veya erlenin ağzını tekrar alevden geçirerek kapatınız. ➤ Tüp veya erleni çalışmalarınıza engel olmayacak şekilde tezgâhın üzerine bırakınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Aktarma yapılacak steril tüp veya erlenin ağzındaki pamuğu çıkarıp ağız kısmını alevden geçiriniz. ➤ Pipetteki sıvıyı aktarınız. ➤ Tüp veya erlenin ağız kısmını alevden geçirip pamuğu kapatınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Aktarma yapılacak tüp veya erleni sol elinize alınız. ➤ Tüp veya erlenin ağzındaki pamuğu alev çatısı altında sağ elinizin serçe parmağı ve avuç ayası ile çıkarınız ve tutunuz. ➤ Sol elinizde tuttuğunuz tüp veya erlenin ağzını alevden geçirirken dikkatli olunuz. ➤ Sağ elinizde tuttuğunuz içinde istenilen hacimde sıvı bulunan pipeti sol elinizde tuttuğunuz tüp veya erlenin içine sıvıyı aktarınız. ➤ Aktarma yaptığınız tüp veya erleni alevden geçirdikten sonra sağ el ayanızda tuttuğunuz pamuk ile kapatınız. ➤ Tezgâh üzerinde uygun yüzeye bırakınız
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kullanılan pipeti dezenfektanlı küvete bırakınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Kullanılan malzemeleri asla tezgah üzerine bırakmatınız. ➤ Çalışma öncesi cam malzemelere uygun dezenfektan çözeltisi hazırlayıp küvete doldurmayı unutmayınız

Öze ile tüpten tüpe aktarma yapmak için;	
<p>➤ Özeği bek alevinde akkor hâline gelene kadar ısıtınız.</p>  <p>➤ Alev çatası altında özeği soğutunuz.</p>	<p>➤ Özeği sağ elinize alınız.</p> <p>➤ Akkor hâline gelinceye kadar alev üzerinde tutunuz.</p> <p>➤ Alev çatası altından özeği asla çıkarmayınız ve herhangi bir yüzeye değdirmeyiniz. Aksi halde tekrar sterilize ediniz.</p> <p>➤ Özeden kaynaklanabilecek bulaşları engellemek amacıyla özenin akkor haline getirilerek sterilize edildiğini asla unutmayınız.</p>
<p>➤ Diğer el ile tüpün ağzındaki pamuğu çıkartınız.</p>	<p>➤ Sol elinizle sporttan tüpü alınız.</p> <p>➤ Sağ elinizin serçe parmağı ve ayası ile pamuğu çıkarınız.</p> <p>➤ Tüpün ağzını dikkatli bir şekilde alevden geçiriniz.</p> <p>➤ Sağ elinizde tuttuğunuz özeği tüp içine daldırınız.</p> <p>➤ Öze ile aktarma yapılacak sıvıyı alınız.</p> <p>➤ Tüpün ağzını tekrar alevden geçiriniz.</p> <p>➤ Sağ elinizde tuttuğunuz pamuk ile tüpü kapatınız.</p> <p>➤ Sporta bırakınız.</p> <p>➤ Aktarma yapılacak tüpü sporttan sol elinizle alınız.</p> <p>➤ Sağ elinizle pamuğu çıkarınız ve tüpün ağzını alevden geçiriniz.</p> <p>➤ Sağ elinizde tuttuğunuz özeği sol elinizdeki tüpün içine aktarınız.</p> <p>➤ Tüpün ağzını tekrar alevden geçirerek sağ elinizdeki pamukla kapatınız.</p> <p>➤ Tüpü sporta bırakınız.</p>
<p>➤ Tüpün ağzını alevden geçirip özeği daldırınız.</p>	
<p>➤ Özenin ağız kısmının dolmasını sağladıktan sonra özeği tüpten çıkarınız.</p>	
<p>➤ Tüpün ağzını alevden geçirip pamuğunu yerleştiriniz.</p>	
<p>➤ Diğer el ile diğer tüpü alıp tüpün ağzını alevden geçirip pamuğu çıkartınız.</p>	
<p>➤ Özedeği sıvıyı aktarınız.</p>	
<p>➤ Tüpün ağzını alevden geçirip pamuğu yerleştiriniz.</p>	
<p>➤ Kullanılan özeği bek alevinde akkor hâline gelinceye kadar tutunuz.</p>	

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki seçeneklerden doğru olanı işaretleyiniz.

1. Aseptik tekniğin amaçları aşağıdakilerden hangisi **değildir**?
 - A) Patojen mikroorganizmaların çevreye ve laboratuvar personeline bulaşmasını önlemek
 - B) Kültürün karışık bir kültür halini almasını engellemek
 - C) Patojen mikroorganizmaların zararını en az düzeye indirmek
 - D) İncelenecek kültürlerle incelemeyi yanıtacak mikroorganizmaların bulaşmasını önlemek
2. Aseptik çalışmada dikkat edilecek noktalar aşağıdakilerden hangisidir?
 - A) Kullanılacak besiyerleri, bütün ekipman kullanımdan önce ve sonra sterilize edilmelidir.
 - B) Mikroorganizma ve incelenecek örnek bir ortamdan diğerine aktarılırken sterilizasyona dikkat edilmelidir.
 - C) Çalışmalar her zaman alev altında yapılmalıdır.
 - D) Hepsi
3. Aşağıdakilerden hangisi aktarmada kullanılan araçlardan **değildir**?
 - A) Öze
 - B) Balonjoje
 - C) Pipet
 - D) Bunzen beki
4. Laboratuvarda yüzey ya da suyun dezenfeksiyonunda etkin olarak kullanılan dezenfektan aşağıdakilerden hangisidir?
 - A) Formaldehit
 - B) İyot bileşikler
 - C) Klor
 - D) Alkoller
5.
 1. UV lambası olan ortamlarda, 30 dakika veya 1 saat UV lambası çalıştırılarak ortam ve masa dezenfeksiyonu yapılmalıdır.
 2. UV lambası kapatıldıktan sonra laboratuvara girilerek bunzen beki açılmalı ve çalışma süresinde açık bırakılmalıdır.
 3. Çalışmaya başlamadan önce tezgah ve masa temizlenir.
 4. Daha sonra % 70'lik alkol ile silinmelidir.

Tezgâh ve masa dezenfeksiyonunda yukarıdaki çalışma aşamalarından hangisi doğrudur?

- A) 1, 2, 3, 4,
- B) 2, 1, 3, 4
- C) 4, 1, 2, 3,
- D) 3, 4, 1, 2,

6. Dezenfektan çözeltisi hazırlamada dikkat edilecek husus aşağıdakilerden hangisi **değildir**?

- A) A)Dezenfektan çözeltisi hazırlandıktan sonra bidonlarda tezgah altı dolaplarda saklanır.
- B) B)Dezenfektan hazırlamada konsantrasyon oranlarının doğru olmasına dikkat edilmelidir.
- C) C)Dezenfektan maddeleri ışıktan korumak için koyu cam şişelerde saklamak gerekir.
- D) D)Ambalaj üzerindeki talimatlar her aşamada çok dikkatli uygulanmalıdır.

Aşağıdaki cümlelerde verilen bilgiler doğru ise parantez içine (D), yanlış ise (Y) yazınız.

- 7. () Mikrobiyoloji laboratuvarında bunzen beki ile çalışma sterilizasyon yöntemlerinden birisidir.
- 8. () Hazırlanmış dezenfektan çözeltileri plastik şişelerde saklamak gerekir.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları tekrar ediniz.

Tüm sorulara doğru cevap verdiyseniz uygulama testine geçiniz.

UYGULAMA TESTİ

Alev altında erlenden pipetle tüpe aktarma yapınız. Yaptığınız uygulamayı kontrol listesine göre değerlendirerek, eksik veya hatalı gördüğünüz davranışları tamamlama yoluna gidiniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Laboratuvar önlüğünüzü giydiniz mi?		
2. Çalışma ortamını temizlediniz mi?		
3. Çalışma araç gerecini hazırladınız mı?		
4. Bunzen bekinin alevini açtınız mı?		
5. Aktarmada kullanılacak steril pipeti bunzen beki alev çatısı altında steril pipetlikten çıkartıp steril pipetliği kapattınız mı?		
6. Alevden seri olarak geçirilerek aktarma işlemine hazırladınız mı?		
7. Aktarma yapılacak numunenin bulunduğu erlenmayeri sol elinize aldınız mı?		
8. Erlenmayer ağızdaki pamuğu sağ avuç içinizle çıkardınız mı?		
9. Erlenmayerin ağız kısmını bunzen beki alevinden geçirdiniz mi?		
10. Pipeti alevden geçirerek aktarılacak numuneyi pipete aldınız mı?		
11. Erlenin ağız kısmını tekrar alevden geçirerek sağ elinizde bulunan pamukla kapattıp tezgâha bıraktınız mı?		
12. Boş örnek tüpünü sol ele aldınız mı?		
13. Bunzen beki alevi altında, sağ elin parmaklarıyla pamuk tıkacı veya kapağı çıkardınız mı?		
14. Tüpün ağız kısmı alevden geçirdiniz mi?		
15. Pipette bulunan numuneyi deney tüpüne boşalttınız mı?		
16. Bunzen beki alevi altında direkt aktarma gerçekleştirdiniz mi?		
17. Tüpleri ağızlarını kapatılarak tüplüğe yerleştirdiniz mi?		
18. Kullandığınız araçların temizliğini yaparak yerine kaldırdınız mı?		
19. Ellerinizi yıkayıp dezenfekte ettiniz mi?		
20. Laboratuvar kontrollerinizi son kez yaptınız mı?		
21. Önlüğünüzü çıkarıp astınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yapılan değerlendirme sonunda **Hayır** şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Cevaplarınızın tamamı **Evet** ise bir sonraki faaliyete geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

1/4 kuvvetinde Ringer çözeltisi hazırlayınız. Yaptığınız işlemleri aşağıdaki değerlendirme tablosuna göre kontrol ediniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Laboratuvar önlüğünüzü giydiniz mi?		
2. Laboratuvarda çalışma öncesi kişisel hazırlıkları yaptınız mı?		
3. Zemin dezenfeksiyonu yaptınız mı?		
4. Tezgâh dezenfeksiyonu yaptınız mı?		
5. Cam araçları yıkayıp durulayarak saf sudan geçirdiniz mi?		
6. Cam araçları etüvde kuruttunuz mu?		
7. Cam araçları sterilizasyona hazırladınız mı?		
8. Metal araçları sterilizasyona hazırladınız mı?		
9. Etüvde sıcaklık ve süre ayarlaması yaptınız mı?		
10. Hazırladığınız araçları etüvde sterilize ettiniz mi?		
11. 1/4 Kuvvetinde Ringer çözeltisi hazırlamak için kimyasalların tartılacak miktarını hesapladınız mı?		
12. Hesaplama miktarına göre tartımını yaptınız mı?		
13. Tartılan kimyasalları balonjojelere aktardınız mı?		
14. Üzerine saf su eklediniz mi?		
15. Kimyasalların çözünmesini sağladınız mı?		
16. Ölçü çizgisine kadar saf su ile tamamladınız mı?		
17. pH'ı 7.0'ye ayarladınız mı?		
18. Hazırladığınız çözeltiden tüp ve erlenlere gerekli miktarlarda aktarma yaptınız mı?		
19. Tüp ve erlenlerin ağızlarını pamukladıktan sonra alüminyum folyo ile sardınız mı?		
20. Tüpleri tüplüklere yerleştirdiniz mi?		
21. Tüplükleri ve erlenleri otoklav sepetine ve otoklava yerleştirdiniz mi?		
22. Otoklavın açma-kapama düğmesi açtınız mı?		
23. Otoklavı 121°C'de 15 -20 dakika süre ve 1 atm basınca ayarladınız mı?		
24. Programdan su seviye göstergesine baktınız mı?		
25. Minimumda ise damıtık suyla su seviye göstergesine kadar suyu tamamladınız mı?		
26. Otoklav kapağını usulüne uygun olarak kapattınız mı?		
27. Dijital ekranda uyarı lambası sönüncüye kadar karşılıklı vidaları sıkıştırdınız mı?		
28. Otoklavın havasını boşalttınız mı?		
29. Sıcaklık 121° C'ye ulaşınca 15-20 dakika süre tuttunuz mu?		
30. Süre sonunda otoklavı devreden çıkararak basıncın düşmesini beklediniz mi?		

31. Otoklavın kapağını açıp ve sterilize edilmiş materyali dışarı aldınız mı?		
32. Sterilize edilmiş araçları dolap veya çekmecelere yerleştirdiniz mi?		
33. Yüzeyle uygun dezenfektanları seçtiniz mi?		
34. Dezenfektan çözeltilerini uygun konsantrasyonda hazırladınız mı?		
35. Çalışma sonunda tezgah dezenfeksiyonunu yaptınız mı?		
36. Zemin dezenfeksiyonunu yaptınız mı?		
37. Kullandığımız maske ve eldiveni çöpe attınız mı?		
38. Önlüğünüzü çıkardınız mı?		
39. Laboratuvardan ayrılmadan önce ellerinizi yıkadınız mı?		
40. Son kontrolleri yaptıktan sonra laboratuvardan ayrıldınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yaptığınız değerlendirme sonunda **HAYIR** şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Cevaplarınızda tereddütleriniz varsa tereddütlerinizle ilgili bölümleri bir daha gözden geçiriniz. Cevaplarınızın tamamı **EVET** ise modülü tamamladınız, tebrik ederiz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ-1 CEVAP ANAHTARI

1	C
2	B
3	D
4	D
5	Y
6	D
7	D
8	Y
9	Y

ÖĞRENME FAALİYETİ -2 CEVAP ANAHTARI

1	B
2	C
3	D
4	C
5	asit-alkali
6	öze
7	otoklav
8	su banyosu

ÖĞRENME FAALİYETİ -3 CEVAP ANAHTARI

1	B
2	A
3	B
4	D
5	D
6	D
7	Y
8	cam-metal malzeme
9	soğuk sterilizasyon
10	tindalizasyon

ÖĞRENME FAALİYETİ -4 CEVAP ANAHTARI

1	B
2	C
3	C
4	C
5	A
6	A
7	D

ÖĞRENME FAALİYETİ -5 CEVAP ANAHTARI

1	D
2	B
3	C
4	A
5	D

ÖĞRENME FAALİYETİ -6 CEVAP ANAHTARI

1	D
2	Y
3	D
4	B
5	B
6	C

ÖĞRENME FAALİYETİ -7 CEVAP ANAHTARI

1	C
2	D
3	B
4	C
5	D
6	A
7	D
8	Y

KAYNAKÇA

- AKÇELİK, Mustafa, Kamuran AYHAN, İbrahim ÇAKIR, Hilal B. DOĞAN, Veliddin GÜRGÜN, A.Kadir HALKMAN, Değer KALELİ, Hakan KULEAŞAN, D.Fügen ÖZKAYA, Nezihe TUNAİL, Çağla TÜKEL, **Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları**, Ankara, 2000.
- BORCAKLI, Mehlika, **Gıda Sanayinde Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü Eğitim Programı**, Gebze, 1990.
- GÜNDOĞDU, Hamiye Fikret, **Metge Pratik Mikrobiyoloji**, Ankara, 1997.
- GÜRGÜN, Veliddin, A. Kadir Halkman, **Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri**, Ankara, 1988.
- HALKMAN, A.Kadir, **Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları**, Ankara, 2005.
- ŞAHİN, İsmet, Duygu Göçmen, **Gıda Laboratuvar Tekniği**, Bursa, 2004.
- TEMİZ, Ayhan, **Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri**, Ankara, 1994.
- ÜNLÜTÜRK, Adnan, Fulya Turantaş (editör), Günnur Tuncel (Mikrobiyal Bulaşma Kaynakları), Ayhan Temiz (Gıdalarda Mikrobital Gelişmeyi Etkileyen Faktörler), **Gıda Mikrobiyolojisi**, İzmir, 1998.
- YİĞİT, Aycan, Araştırma Görevlisi, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, 2006.
- Tarım ve Köyşleri Bakanlığı, Bursa Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsü, 2007.
- <http://www.mikrobiyoloji.org>.