

Laboratuvar Ortamlarında Temizlik, Dezenfeksiyon ve Sterilizasyon Uygulamaları

Dr. Gülnur TARHAN

Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı, Tüberküloz Referans ve Araştırma Laboratuvarı, Ankara

Enfeksiyon hastalıklarının tanı ve tedavisinde laboratuvar bulgularının önemli bir yeri vardır. Laboratuvar çalışmalarında hedef kaliteli ve doğru çalışmalar yaparak, hastaya yardımcı olmaktır. Bu çalışmaları yaparken sağlıklı, temiz ve güvenli çalışma ortamı oluşturmak her laboratuvar çalışmasının temel görevidir. Bu nedenle çalışma ortamlarında genel çalışma kuralları, iş niteliğine göre temizlik, dezenfeksiyon ve sterilizasyon uygulamaları tüm çalışmaların ana basamağı olup, bir bütün halinde değerlendirilmelidir. Bunların herhangi birinde meydana gelebilecek hata veya aksamaların; başta çalışanın sonra ailesinin ve çevresindekilerin sağlığını olumsuz yönde etkileyeceği, kalitesiz ve yanlış test sonuçlarının alınmasına neden olacağı unutulmamalıdır.

Genel olarak düşünüldüğünde enfeksiyöz materyalle çalışan tüm laboratuvarlarda bulunan personel enfeksiyon riski altındadır. Enfeksiyon ajanları (bakteriler, virüsler, parazitler vb.) doğal ortamlarda olduğu gibi laboratuvar ortamlarında da; Deri yada mukozalarla temas, Oral yol, İnhalasyon yolu ve İnokülasyon yolu ile olmak üzere başlıca 4 temel yol ile bulaşabilir.

Deri ya da mukozalarla temas

- Pipetleme ve vorteksleme işlemleri sırasında materyalin deri veya mukozalara sıçraması –dökülmesi ile,
- Kontamine yüzeylerde çalışma,
- Kontamine ekipmanın kullanılması ile,

Oral yolla (sindirim)

- Ağızla pipetleme,
- Ağıza direkt olarak sıçrama,
- Kontamine ellerle ağız, kahve fincanı, ve besinlere dokunma,
- Çalışma alanında yeme, içme, sigara içme gibi nedenler ile,

İnhalasyon yoluyla (solunum) (Aerosoller aracılığı ile)

- Öksüren hastalardan balgam örneklerinin toplanması,
- Enfeksiyöz süspansiyonların dökülmesi,
- Enfeksiyöz materyalin bir kaptan diğer kaba boşaltılması,
- Özenin yakılması, besiyerinde soğutulması,
- Santrifüjleme,

- Pipetleme,
- Pipetteki son damlanın üflenmesi,
- Vorteksleme,
- Enjektörden iğnenin ayrılması,
- Sonikasyon,
- Örneklerin vakum altında filtrasyonu,

İnokülasyon yoluyla

- Enjektörlerle ilgili işlemler,
- Cam kırıklar ve diğer kesici maddelerin batması sonucu

Tüm diğer enfeksiyonlarda olduğu gibi laboratuvar enfeksiyonlarında da enfeksiyon oluşumuna neden olabilecek etkenlerin bilinmesi ve her aşamada buna göre gerekli önlemlerin alınması oldukça önemlidir. Özel uygulama gerektiren laboratuvarlar haricinde tüm laboratuvarlarda genel uygulama kurallarının bilinmesi ve bu prensipler çerçevesinde çalışma düzeninin oluşturulması zorunludur.

Genel laboratuvar çalışma kuralları:

- Giysilerin kirlenmemesi, giysilerdeki tozlarla; kültürlerin, besiyerlerinin, kullanılan gereçlerin kontamine olmaması, çalışma sırasında olası kontaminasyonlardan korunmak için temiz bir laboratuvar gömleği giyilmelidir. Acil durumlarda kullanılmak üzere mutlaka temiz bir laboratuvar gömleği bulundurulmalıdır. Kirli laboratuvar gömlekleri, düzenli olarak haftada en az bir defa yıkanmalıdır.
- Laboratuvar ortamı ile dış ortam arasında toz, kir ve enfeksiyöz ajanların geçişini engellemek için laboratuvar bölümlerinde ayın terlik veya ayakkabı kullanılmalıdır.
- Yüksek enfeksiyon riski taşıyan özel çalışma alanlarında; tanımlanan çalışma kurallarına uygun olarak, giyilmesi zorunlu tutulan önlük, eldiven, maske, kep, gözlük ve terlik gibi kıyafetlerin kullanılmasına dikkat edilmelidir. Bu bölümlerde kullanılan tüm malzemeler, laboratuvarın diğer bölümlerinde kesinlikle kullanılmamalı, diğer malzemeler ile karıştırılmamalı ve belirtilen kurallara uygun olarak dezenfekte ve sterilize edilmelidir.
- Laboratuvarında herhangi bir şey yenilip, içilmelidir.
- Laboratuvara gereksiz eşya (palto, çanta, kitap gibi.) sokulmamalı, çalışma masaları üzerine gereksiz malzeme bulundurulmamalıdır.

• Laboratuvara girildiği andan itibaren her şey kirlili ve mikroplu kabul edilip, ellerin ve kalem, kağıt gibi eşyaların yüze, ağıza ve göze değmemesine özen gösterilmelidir.

• Çalışmaya başlamadan önce ellerde kesik, yara vb. durumlar varsa, bunların üzeri su geçirmez bir bantla kapatıldıktan sonra çalışılmalı, aksi taktirde çalışılmamalı ve durum sorumluya iletilmelidir.

• Kontamine malzemeleri tutarken veya kontamine materyalle çalışırken mutlaka eldiven giyilmeli, yırtık eldiven giyilmemeli, yırtılan eldivenler hemen çıkartılmalı ve değiştirilmelidir.

• Kontamine sıvıların bulaşması durumunda eller ve diğer cilt yüzeyleri suyla ve antiseptik temizleyicilerle derhal ve iyi bir şekilde yıkanmalıdır.

• Çalışma sırasında göze veya mukozalara materyal sıçrama durumunda maruz kalan bölge bol su ile yıkanmalı, daha sonra gerekli sağlık önlemleri alınmalıdır.

• Çalışırken laboratuvar kapı ve pencereleri kapalı tutulmalı, laboratuvarında yüksek sesle konuşulmamalı, mikroorganizma veya aerosoller etrafa yayacak gereksiz ve ani hareketlerden sakınılmalıdır.

• Her çalışma sonrasında ve laboratuvardan çıkarken eller önce bol su ve sabunla sonrada antiseptik bir madde ile yıkanmalıdır.

• Çalışmaya başlamadan önce çalışma masası temiz ve düzenli olmalı, ayrıca dezenfektan madde (% 5 sodyum hipoklorid / %70 alkol) ile silinmelidir.

• Çalışma sırasında olası kontaminasyonlar için mutlaka bir dezenfektan solüsyon, kağıt havlu veya gazlı bez hazır bulundurulmalıdır.

• Çalışma öncesinde çalışma için gerekli tüm malzeme durumu kontrol edilmelidir. Eksik olan malzemeler çalışmaya başlamadan önce tamamlanmalıdır.

• Sterilizasyonundan kuşku duyulan hiç bir malzeme kullanılmamalıdır.

• Çalışma bittikten sonra çalışma alanı temizlenmeli, dezenfekte edilerek bir sonraki çalışma için hazır duruma getirilmelidir.

• Kirli malzemeler kendilerine ait kapılara konulmalı, kurallarına uygun şekilde sterilize edildikten sonra imha edilmelidir.

• Çalışma bittikten sonra çalışmaya ile ilgili her şey gerekli yerlere kaldırılmalı, bankolar ve çalışma ortamı boşaltılmalı ve dezenfekte edilmelidir.

• Laboratuvarda bulunan tüm aletler çok dikkatli bir şekilde kullanılmalı ve her kullanımdan sonra kapatılmalıdır. Çalışmada sonrasında alet ve cihazlar temizlenerek bir sonraki çalışma için hazır duruma getirilmelidir.

• İçinde kültür bulunan tüp, petri kutusu gibi malzemeler açık olarak masa üzerine bırakılmamalı, tüpler önlük cebinde taşınmamalı, masa üzerine geliş güzel konulmamalıdır (özellikle sıvı kültür içerirler). Tüpler tüplükte tutulmalıdır.

• Laboratuvarın kültür ve kontamine olduğu düşünülen hiç bir materyal dışarıya çıkmamalıdır.

• Çalışma sırasında kontamine olan elbiseler hemen değiştirilmeli ve iyice yıkayıp temizlenene kadar diğer giysilerden uzak tutulmalıdır.

• İğne ucu yaralanmalarını önlemek için ucu tekrar kapatılmamalı, bükmemeli, kırılmamalı, değiştirilmemelidir. Kullanılmış olan iğne veya şırıngalar tekrar kullanılmamalıdır.

• Bistüri, jilet, makas, bıçak vb. keskin aletler tekrar kullanılacak ise uygun temizleme işlemleri yapıldıktan sonra, kendi koruma kutularına yerleştirilmelidir.

• Kırık kenarlı tüp ve şişeler, yaralanmalara ve enfeksiyonlara neden olabilecekleri için kesinlikle kullanılmamalıdır.

Laboratuvar çalışmalarında belirtilen çalışma kurallarına ilaveten yapılan işlemlerden, verimli sonuçlar alabilmek, bunları yaparken sağlıklı çalışma ortamı oluşturabilmek ve çevremize zarar vermemek için; tüm aşamalarda ortam temizliği, dezenfeksiyon ve sterilizasyon kurallarını bilmek ve bu kurallara göre uygulama yapmak oldukça önemlidir.

KONTAMİNASYON: Mikroorganizmaların çevreye ve cansız materyale bulaşmasına kontaminasyon denir.

ENFEKSİYON: Mikroorganizmaların canlıya bulaşmasıdır. Her zaman hastalık ile sonuçlanmaz.

TEMİZLİK: Bir eşya üzerindeki istenmeyen bütün yabancı maddelerin (toz, organik materyal vb.) su, kimyasal ve fiziksel faktörler yardımı ile ortamdaki uzaklaştırılması işlemidir.

DEZENFEKSİYON: Bir cismin veya maddenin ge-

nellikle kimyasal bir ajan kullanarak, hastalık yapıcı (patojen) mikroorganizmalardan arındırılması işlemidir. Bu işlem ile daha çok bakterilerin aktif formları (vegetatif formları) öldürülür. Spor gibi dayanıklı formları öldürülemez. Dezenfeksiyon amacıyla kullanılan kimyasal maddeye dezenfektan denir.

ANTİSEPSİ: Vücudun deri ve mukoza gibi yüzeysel dokuları ile yara gibi lezyonlarının kimyasal maddeler kullanılarak hastalandırıcı mikroorganizmalardan temizlenmesi işlemidir. Diğer bir deyişle canlı dokulara uygulanan dezenfeksiyon işlemidir. Bu amaçla kullanılan kimyasal maddelere antiseptik –antibiyotik denir.

STERİLİZASYON: Bir ortam veya maddede bulunan bütün mikroorganizmaların her türlü canlı, aktif ve spor formlarıyla birlikte temizlenmesi veya öldürmesi işlemidir. Bu işlem sonunda işlemin yapıldığı madde, cisim veya alette gelişme ve üreme yeteneğine sahip hiç bir canlı bulunmaz.

Temizlik, sterilizasyon ve dezenfeksiyon işlemleri birbiri ile bağlantılı olup, tüm uygulamalardan etkin bir sonuç alabilmek için özellikle başlangıç temizliğinin yapılması oldukça önemlidir. Çalışma ortamı, alet ve malzemeler kurallarına uygun olarak temizlenmediği sürece yapılan tüm işlemlerden sağlıklı sonuç alınması mümkün değildir. Temizlik fiziksel, kimyasal, bakteriyolojik ve osmolojik temizlik olmak üzere 4 temel işlem sonucu gerçekleşir.

FİZİKSE TEMİZLİK	KİMYASAL TEMİZLİK	BAKTERİYOLOJİK TEMİZLİK	OSMOLOJİK TEMİZLİK
Ortamdaki toz ve kirlilerin kaldırılması	Sabun, deterjan vb. kimyasal maddeler ile	İnsan metabolizmasına hastalık yapan mikroorganizmaların kaldırılması DEZENFEKSİYON ve STERİLİZASYON	Kişileri rahatsız eden kötü kokuların kaldırılması

Çalışma ortamlarında temizlik düzenlemeleri ve kuralların, temizlik yapılacak alanın ve malzemenin; risk düzeyine, türüne ve kirlilik derecesine göre değişir. Temizlik için kullanılan temel malzemeler: Su, sabun, deterjan ve amaca uygun dezenfektanlardır. Su ve deterjan kullanarak yapılan et-

kili bir temizlik işlemi ile; ortamda bulunan toz ve kirler ile birlikte, yine ortamda bulunan zararsız fakat belirli koşullarda zararlı hale gelebilen ve bu nedenle tehlikeli olabilecek mikroorganizmalarda uzaklaştırılacağından, temizliğinde bir tür dezenfeksiyon işlemi olduğu unutulmamalıdır. Enfeksiyon riski taşımayan çalışma ortamları ve bu ortamlarda kullanılan tüm eşyaların temizliğinde su ve deterjan en temel iki malzemedir. Önemli olan bunların etkin bir şekilde kullanılmasıdır. Enfeksiyon riskinin söz konusu olduğu ortamlarda özellikle su ve deterjanla yapılan temizliğe ilaveten, mutlaka dezenfeksiyon ve sterilizasyon yapılması gerekir. Dezenfeksiyon ve sterilizasyon işlemlerinin devreye girdiği yerlerde; bu yöntemlerin seçimi kullanılan malzeme ve araçların türüne göre değişir. Bu nedenle uygun yöntemin ve maddenin belirlenmesi yapılan işlemin doğruluğunu ve etkinliğini sağlama bakımından oldukça önem taşır. Dezenfeksiyon ve sterilizasyon yöntemleri fiziksel ve kimyasal yöntemler olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

DEZENFEKSİYONDA KULLANILAN YÖNTEMLER

1. Kimyasal maddeler ile dezenfeksiyon

2. Fiziksel yöntemler ile dezenfeksiyon

- Sıcak su ile dezenfeksiyon
- Kaynar su ile
- 75-100 ° C sıcak su içerisinde bekletme
- Pastörizasyon

3. Radyasyon ile dezenfeksiyon (Işınlandırma)

- Ultraviyole ışınları ile

1. KİMYASAL YÖNTEMLER İLE DEZENFEKSİYON

Dezenfeksiyon ve antisepsi daha çok kimyasal maddeler kullanılarak yapılır.

Sülfürik asit (H₂SO₄): %0.2 çözeltisi su borularının dezenfeksiyonunda

Hidroklorik asit (HCl): %2 çözeltisi şarbonlu hayvan kıl ve derilerinin dezenfeksiyonunda

Borik asit: %1-3 çözeltisi göz antiseptiği olarak, toz halinde yara üzerine serpilir.

Benzoik asit: %0.1 lik konsantrasyonu besinlerdeki bakteri ve mantar üremesine engel olur.

Etil alkol: Sudaki %60-70 lik çözeltisi deri antiseptiği olarak kullanılır. Deride, lipid çözücü etkisiyle mikroorganizmaların mekanik olarak uzaklaştırılması sağlanır.

Kloroform: Bir sıvıya %0.25 oranında ilave edilen kloroform, sıvıda bakteri ve mantarların üremesine engel olur. Dha ziyade serum ve bazı sıvıların saklanması ve sterilizasyonunda kullanılır.

Fenol: %0.5 lik konsantrasyonu serum ve aşılarda saklanması ve sterilizasyonunda kullanılır.

Krezol: %5 lik çözeltisi yüzey dezenfeksiyonunda

Lizol: %3 lük çözeltisi deri antiseptisinde, cerrahi aletlerin, çamaşırların, hasta çıkartılan ve hastane ortamının dezenfeksiyonunda

Hidrojen peroksit: %3 lül çözeltisi yara antiseptiği olarak

Potasyum permanganat: 1/1000 lik çözeltisi deri antiseptiği olarak

Sönmemiş kireç: Septik çukur, tükürük hokkaları ve kadavraların üzerine toz halde serpilerek uygulanır

Kireç sütü: 1 kısım kireç tozuna, 3 kısım su ilave edilerek hazırlanır. Hasta çıkartılanın dezenfeksiyonunda kullanılır.

Formalin: Formaldehit sudaki %37 lik çözeltisidir. Bakteri sporları dahil hemen hemen tüm mikroorganizmaları öldürdüğünden, bu madde kumaş, deri, lastik tahta ve madeni eşyanın sterilizasyonunda kullanılır.

Gaz şeklideki formaldehit: Katı haldeki paraformaldehit veya sulandırılmış formalinin ısıtılması ile elde edilen formaldehit gazı odaların dezenfeksiyonunda kullanılır. 20°C deki havanın litresinde en az 2 mg yoğunluğunda bulunmalıdır. 24 saat bu gaz ile kapalı tutulan oda, daha sonra amonyak gazı sevkedilerek nötralize edilir.

Timol: Besiyeri ve eriyiklerin saklanması, bakteriyofajlara etkisiz olduğundan bakteriyofaj kültürü içine küçük bir kristal konarak kültürün korunmasında

İyot: Bakterisit ve fungusit etkiye sahiptir. %10 alkolü sudaki çözeltisi deri antiseptiği olarak kullanılır.

Klor (Cl₂): İçme sulunun ve yüzme havuzları sulunun dezenfeksiyonunda çok kullanılan bir gazdır.

Sodyum hipoklorit: %3-5 lik çözeltisi ev kullanımında çamaşır ve yer dezenfektanı olarak kullanılır.

Kalsiyum hipoklorit: Şehir sularının dezenfeksiyonunda

Kloramin: Hipoklorik asidin, amid gruplarını içeren organik maddelerle oluşturduğu bir bileşik olup, %5 lik çözeltisi ellerin, madeni ve cam eşyaların ve çamaşırların dezenfeksiyonunda kullanılır.

Antiformin: 10 gr sodyum hipoklorit ve 7.5 gr sodyum hidroksitin 10 ml sudaki çözeltisi olup, hasta atıklarının dezenfeksiyonunda kullanılır.

Etilen oksit: Viral partiküller, bakteriler, mantarlar ve sıcaklığa çok dirençli bakteri endosporları için mükemmel bir toksik gazdır. Hava ile karışımı patlayıcı olduğundan %90 CO₂ ile karıştırılarak, bu özelliği ortadan kaldırılabilmektedir. Karboksit adı verilen bu karışım ile, sıcaklıkla bozulan maddeler ve bazı aletler steril edilir.

Sabun ve deterjanlar: Mekanik temizleme yapar. %5 lik krezollü, % 5 lik fenollü ve %3 lük heksoklorofenli sabunlar deri antiseptisinde kullanılır. Daha ziyade gram pozitif bakterilere etkili olurlar.

Tüm bu dezenfektan ve antiseptik maddeler mikroorganizmalara; Hücre zarının işlevlerini bozmak, hücre protein yapılarını bozmak, önemli enzim aktivitelerini bozmak ve nükleik asitleri etkilemek gibi temel hayati fonksiyonlarını bozarak etki ederler. Bunun sonucunda mikroorganizmaların ya üremesi durur (mikrobiyostatik) veya ölür (mikrobisit).

Etkili bir dezenfeksiyon işlemi için kullanım amacına göre uygun yöntemin ve dezenfektanın seçimi oldukça önemlidir. Bu aşamada; dezenfekte edilecek alan, araç ve gereçlere göre dezenfeksiyon yönteminin etki düzeyi, toksik ve koroziv etkileri, kontaminasyonun türü ve düzeyi, kullanılan dezenfektanın konsantrasyonu, uygulama süresi, işlem sırasındaki ısı ve pH düzeyleri ve mikroorganizmanın tipi belirlenmelidir.

- Bakterisit etkisi yüksek olmalı
- Kolaylıkla bozulmamalı
- Suda iyi erimeli
- Süspansiyon halinde ise homojen olmalı
- İnsan ve hayvanlar için en az toksik olmalı ve çevreyi kirletmemeli
- Eşyayı tahrip etmemeli
- Uygulandığı malzemeler ve yüzey ile geçimli olmalı

- Eşyaların üzerinde leke bırakmamalıdır.
- Ucuz olmalı

DEZENFEKSİYON VE ANTİSEPSİYİ ETKİLEYEN ETMENLER

Dezenfektan kimyasal maddelerin yoğunluğu:

Kimyasal maddelerin dezenfektan ve antiseptik etkileri yoğunluk arttıkça artar. Ama bu olay sınırsız değildir. Dezenfektan madde belli bir yoğunluğa ulaştıktan sonra etki değişmez olur. Bir çok kimyasal madde yüksek yoğunlukta jermisit (mikrobisit), düşük yoğunlukta ise bakteriyostatik (mikrobiyostatik) tir. Bütün kimyasal maddelerin en iyi etkili olduğu optimal yoğunluğu vardır. Bu nedenle dezenfektan ve antiseptiklerin önerilen yoğunlukta kullanılmaları etkin bir sonucun alınması bakımından çok önemlidir.

Dezenfektan ve antiseptiğin etki süresi: Bir kimyasal maddenin mikroorganizmalar üzerinde etkili olabilmesi için, belli bir sürenin geçmesi lazımdır. Bu süre kimyasal maddenin yapısına, ortamın nemine, ısıya, mikroorganizmaların cins ve sayısına ve başka etmenlere bağlı olarak azalır ve çoğalır. Bu nedenle dezenfektanların etki süresi iyi bilinmeli, önerilen temas süresine uyulmalıdır. Hiç bir madde bir kaç saniyede dezenfekte olmamaktadır.

pH derecesi: Her dezenfektanın iyonize olabildiği bir en az birde en çok pH sınırı vardır. Ortamın pH derecesi optimalden ne kadar uzaklaşırsa mikroorganizmaların dezenfektana olan dirençleri de o kadar azalacağından etkisi o oranda artar.

Isı: Isı derecesi arttıkça dezenfektan maddenin içinde eritilmiş veya sulandırılmış olduğu sıvıdaki iyonizasyon miktarı ve dolayısıyla etkisi de artar. Isı azaldıkça etkisinde de azalma olur. Isının artması ile etkinin artması sınırsız değildir. Isının artması ile etkinin artması her dezenfektan ve etkilenen her mikroorganizma için belli bir katsayı oranında artış gösterir.

Ortamda bulunan ve mikroorganizmayı çevreleyen organik maddeler:

Mikroorganizmaların etrafını saran kan, serum, müküs, dışkı, doku maddeleri mikroorganizmaların dezenfektan madde ile temaslarını engellediğinden ve çoğu kimyasal maddenin yapılarını bozduğundan dezenfektanların etkilerinin azalmasına yol açarlar. Yine ortamda bulunan ve dezenfektan madde ile kimyasal antagonist etki taşıyan başka maddeler onunla bileşikler yaparak etkisini azaltırlar. Örneğin;

Demir klorür ve karbon, fenolün etkisini giderirler. Yüzey gerilimini azaltan maddelerin varlığı dezenfektanın ıslatma ve yayılma yeteneğini artırarak mikroorganizmalarla daha kolay ve doğrudan ilişki kurmayı sağladığından olumlu yönde etkili olurlar. Yüzey gerilimini azaltıcı özelliği bulunan dezenfektanların etkisi bu yoldanda artmaktadır. Ortamın ozmotik basıncının artması hücrenin suyunu azaltacağından dezenfektana olan direnci artırır.

Ağır metallerin oligodinamik etkisi: Mikroorganizmaların cinsine göre dezenfektanın etkisi değişik olabildiği gibi, onların bulunduğu yaşam evresine göre de etki ayırımı gösterir. Örneğin: Vejetatif şekiller daha duyarlı sporlu şekiller ise daha az duyarlıdır. Logaritmik üreme dönemindeki mikroorganizmalar daha duyarlı, stasyonere üreme döneminde bulunanlar daha dirençlidirler. Ayrıca mikroorganizma sayısı çok fazla olursa dezenfektan ve antiseptik madde ile birlikte oluş süresi daha uzun olmalıdır. Aynı toplulukta bile bütün mikroorganizmalar aynı dezenfektana aynı derecede duyarlı değildirler. Topulukta ok duyarlı mikroorganizmalar bulunduğu gibi dezenfektanlardan etkilenmeyen mikroorganizmalarda bulunabilir.

Ağır metallerin oligodinamik etkisi: Gümüş, bakır, altın gibi ağır metaller birlikte buldukları mikroorganizmalara öldürücü veya üremelerini engelleyici dezenfektan etki yaparlar. bu etki metallerin ortama yayılan etkileri ile olmaktadır.

DEZENFEKTANLARI KULLANIRKEN DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN KURALLAR

1. Dezenfektan maddeler kullanılırken, üretici firmanın tavsiyeleri ve genel kullanım kuralına uygun olmayan maddeler ile karıştırılarak kullanılmamalı, saf olmasına dikkat edilmelidir. Saf dezenfektanlar kullanılmadan önce önerilen oranlarda sulandırılmalıdır. Sulandırma yapılırken su ölçülerek konulmalıdır. Göz karan veya kapak sayısı kadar dezenfektan eklenmesi hatalı bir uygulamadır.

2. Dezenfektan maddelerin toksisitesi, kokusu ve kullanıldığı andaki aktivitesi önemli olup, kullanım anında taze hazırlanmış olmasına dikkat edilmelidir. Dezenfektan solüsyonlar hazırlandıktan sonra üzerine hazırlandığı tarih yazılmalı ve uzun süre bekletilmemelidir. Sulandırılmış bir dezenfektan solüsyon uzun süre bekletilirse patojen mikroorganizmaların üreme süresi için uygun bir ortam oluştu-

rabilmektedir. Bu nedenle dezenfektan solüsyonlar günlük tüketilecek kadar sulandırılmalıdır. Sulandırılmadan önce içinde saklanacakları kap önceden temizlenmeli ve mümkünse steril edilmelidir. Kapların kapakları mantar içermemeli, kapaklar plastik veya metal olmalıdır. Solüsyon güneş ışığından korunmalı ve havayla uzun süre temas etirilmemeli, bu nedenle solüsyonlar şeffaf olmalı ve ağzı sıkıca kapalı kaplarda saklanmalıdır.

3. Son kullanma tarihi geçmiş, kokusu ve rengi değişmiş dezenfektanlar etkinliklerini kaybettikleri için kullanılmamalıdır.

4. Dezenfeksiyon işleminden etkili sonuç alabilmek için, dezenfektanların belirtilen konsantrasyonlarda kullanılması gerekir. Bu nedenle dezenfekte edilecek malzemenin kuru olmasına dikkat edilmelidir. Dezenfekte edilecek malzemeler ıslak ise dezenfektanın etki konsantrasyonunu değiştireceğinden bu malzemeler kurulandıktan sonra dezenfektan solüsyonu içinde bekletilmelidir.

5. Bir malzemenin dezenfektan içerisinde belirtilen süreden daha uzun süre tutulmasının yararı yoktur. Gereğinden fazla tutulması durumunda malzemenin yapısının bozulmasına neden olabilir.

6. Dezenfeksiyon işleminden sonra ortam ıslak bırakılmamalı, ıslak ise kurulanmalıdır. Islak bırakılan her materyal mikroorganizmaların üremesi için uygun bir ortam oluşturur.

2. FİZİKSEL YÖNTEMLER İLE DEZENFEKSİYON

Sıcak su ile dezenfeksiyon: Sıcak su; Bilinen dezenfeksiyon işlemleri içerisinde en ucuz, hiç bir toksik etkisi olmayan ve çevreye zarar vermeyen en etkili yöntemlerden biridir. Canlı dokulara uygulanmadığı sürece organizmaya hiç bir zarar yoktur. Gerekli ısı derecesi ve yeterli sürede uygulandığı zaman çok geniş kapsamlı bir dezenfektan etkiye sahiptir.

Kaynar su ile: 100 °C kaynar suda bakterilerin vejetatif (aktif form) şekilleri bir kaç dakika içinde ölürler.

75-100 ° C sıcak su içerisinde bekletme: 75-100 ° C sıcak suda bekletmede de bakterilerin bazı vejetatif formları ölür.

Pastörizasyon: Süt, krema, meyva suları gibi besinlerdeki hastalandırıcı mikroorganizmaların öldürülmesi için gıda endüstrisinde uygulanan dezenfeksiyon yöntemidir. Bunun için ürün 63-65 ° C de

en az 30 dakika veya ince tabaka halinde 71-72 °C sıcaklıktaki iki levha arasında tutulduktan sonra birdenbire soğutulur. Pastörizasyon işlemi ile Mycobacterium ve Brucella gibi bakteriler ölürken, Streptococcus lactis gibi patojen olmayan, fakat ısıya dayanıklı mikroorganizmalar canlı kalırlar. Bu nedenle pastörize süt buzdolabında en fazla 2 gün bekletilmelidir. Bu süreden sonra, süt içindeki mikroorganizmalar çoğalacağından sütün besinsel ve sağlıksal niteliği bozulur.

3- RADYASYON İLE DEZENFEKSİYON

Ultraviyole ışınları ile: Steril odaların ve doku kültürlerinin bulunduğu yerlerdeki hava ile taşınan yüzeylere yerleşen mikroorganizmaların öldürülmesi için kullanılır.

STERİLİZASYONDA KULLANILAN YÖNTEMLER

Sterilizasyon; kullanılan araç ve gereçlere ve sterilize edilecek malzemenin türüne göre fiziksel ve kimyasal yöntemler ile yapılmaktadır. Laboratuvar ortamlarında sterilizasyon söz konusu olduğunda daha çok fiziksel yöntemler ile sterilizasyon tercih edilmelidir.

1. FİZİKSEL YÖNTEMLERLE YAPILAN STERİLİZASYON

A-ISI İLE STERİLİZASYON

a.Kuru Isı İle Sterilizasyon

1. Alevden geçirme
2. Kızıl dereceye kadar ısıtma
3. Kuru sıcak hava ile ısıtma

b-Nemli Isı İle Sterilizasyon

1. Kaynatma
2. Tindelizasyon
3. Koagülasyon
4. Buharla sterilizasyon
5. 100 °C 'nin üstünde basınçlı buharla sterilizasyon
6. 100 °C de akın halinde buharla sterilizasyon
7. Çok yüksek ısıda sterilizasyon (UHTS)

B-FİLTREASYONLASTERİLİZASYON

1. Diatom toprağı filtreleri
2. Porselen filtreler
3. Asbest süzgeçli filtreler
4. Membran filtreler ve ultrafiltreler

C-IŞINLARLA STERİLİZASYON

a-Elektromanyetik Işınlara

1. Ultraviyole ışınları
2. X ışınları
3. Gama ışınları

b- Partiküler Işınlara

1. Beta (katod) ışınları
2. Alfa ışınları

2. KİMYASAL YÖNTEMLERLE YAPILAN STERİLİZASYON

A-GAZLARLA YAPILAN STERİLİZASYON

1. Etilen oksit
2. Ozon
3. Beta propiyolakton

B-KİMYASAL MADDELERLE YAPILAN STERİLİZASYON

1. Timol
2. Gluteraldehit, hidrojen peroksit, formol (formaldehit), sodyum azid

FİZİKSEL YÖNTEMLERLE YAPILAN STERİLİZASYON

A-ISI İLE STERİLİZASYON

a.KURU ISI İLE STERİLİZASYON

Kullanım Avantajı

- Etkin bir şekilde mikroorganizmaların tüm formlarını öldürülebilir.
- Uygulanması kolay ve ucuzdur.
- Güvenilirdir.
- Toksik, kanserojenik vb. zararlı etkileri yoktur.
- Uygulama hataları çok azdır.

Mekanizması

- Hücrede bulunan enzim ve proteinler koagüle olur.
- Protein yapısı bozulur.
- Mikroorganizmalar canlılıklarını kaybederler.
- Mikroorganizmaların, içerdikleri su miktarına bağlı olarak sıcaklığa duyarlılıkları farklıdır.
- 80-85 °C de vejetatif bakteriler saniyeler içinde ölür.
- Sporlar az su içerdikleri için sıcaklık ile sterilizasyona daha dayanıklıdır.

Kullanılan Aletler

- Bunzen beki, Pastör fırını

Sterilleme İçin Kullanılan Malzemeler

• Metal malzemeler (öze, iğne, pens, bistüri vb.), Boş cam malzemeler, Yağlar (Vazelin gibi içlerine nemin ulaşmadığı yağlar), Toz malzemeler (Talk vb.)

Sterilizasyon Şekli

- Kızıl dereceye kadar ısıtma

İğne ve öze gibi aletler kullanılmadan önce ne kullanıldıktan hemen sonra kızıl dereceye kadar ısıtılarak mikroorganizmalardan arındırılırlar. Bu amaçla bunzen bek alevinde;

1. İğnenin veya özenin metak kısmının tümü ile sapın alt kısmı alevin içinde tutulur.

2. Bu işlem sırasında ısı etkisi ile sıçramaları engellemek için; kontamine kısım önce alevin kızgın olmayan uç kısmında tutulur.

3. Sonra kızgın olan kısma getirilerek kor haline gelinceye kadar yakılır.

- Alevden geçirme

Steril edilmiş cam malzemelerin (Tüp, balon, erlenmayer vb.) ağız kısımlarındaki tıkaçlar açılıp kapatılırken; bistüri, bıçak ve pens gibi metal malzemeler ve steril pipetler kullanılırken çevreden kaynaklanabilecek kontaminasyonları önlemek ve dış tarafta sıcak hava akımı yaratılarak mikrop bulaşma olasılığını azaltmak için kullanılır. Bu amaçla steril edilecek kısım bunzen bek alevinden bir kaç kez geçirilir.

- Kuru Sıcak hava ile sterilizasyon

Boş, temiz ve sterilizasyon ön hazırlığı yapılmış cam malzemeler (tüp, balon, petri kutusu, erlenmayer, pipet vb.); bistüri ve pens gibi metal malzemeler kuru sıcaklık ile çalışan fırınlarda (pastör fırınları): 170 °C' de 1 saat veya 160 °C' de 2-2.5 saat veya 180 °C' de en az 30 dakika ısıtılarak sterilize edilir

• Bu yöntemle sterilize edilecek malzemenin tamamen kuru olması gereklidir. Bu nedenle ıslak cam eşya önce oda sıcaklığında veya 70 °C' de kurutulmalı daha sonra yüksek derecede sterilize edilmelidir.

• Sürenin mutlaka istenen ısı derecesine ulaştıktan sonra hesaplanması gerekir.

• Pastör fırınlarında kuru hava ile sterilizasyon sırasında dikkat edilmesi gereken en önemli noktalardan biri sterilizasyon başladıktan sonra kesinlikle ek alet ilave edilmemesidir. Ek alet ilave edilecekse ısı istenen dereceye geldikten sonra süre tekrar

baştan hesaplanmalıdır.

• Sterilizasyon süresi tamamlandıktan sonra fırın soğumadan kapak açılmamalıdır. Aksi takdirde cam malzemeler kırılabilir.

B.NEMLİ ISI İLE STERİLİZASYON

Kullanım Avantajı

• Etkin bir şekilde mikroorganizmaların tüm formları öldürülebilir.

• Uygulanması kolay ve ucuzdur.

• Güvenilirdir.

• Toksik, kanserojenik vb. zararlı etkileri yoktur.

• Uygulama hataları çok azdır.

• Nemli ısıda, ortamdaki nem ısı enerjisini daha kolay iletir. Ve protein yapısını oluşturan peptid zincirleri ortamdaki nem vasıtasıyla hareket edip uzaklaşırlar. Gelişigüzel yığılmalar, birleşmeler olmaz. Kuru sıcaklığa göre nemli sıcaklığın öldürücü etkisi daha fazladır ve ortam nemli olduğu için buharlaşma ile su kaybı söz konusu değildir.

Mekanizması

• Hücrede bulunan enzim ve proteinler koagüle olur. Protein yapısı bozulur. Mikroorganizmalar canlılıklarını kaybederler.

Kullanılan Aletler

- Otoklav, Koch kazanı, Benmari, Kogülatör

Sterilleme İçin Kullanılan Malzemeler

• Besiyerleri, Kumaş giyisiler, Kauçuk, Plastik vb. kuru sıcaklıkta bozulabilen malzemeler, cam malzemeler : otoklavda 121 °C' de 30 dk steril edilebilir. Ancak içlerinde nem ve su damlacıklarının birikmesi önemli bir sakıncadır.

Sterilizasyon Şekli

• **Basınçlı buharla sterilizasyon:** Otoklavda buharla doymuş ortamda ve 100 °C den yüksek sıcaklıkta sterilizasyon yapılır.

• **Basıncsız buhar ile sterilizasyon:** Kapağı sıkıca kapatılmamış otoklav veya 100 °C' de akım halinde buharla çalışan koch kazanı kullanılır. Daha çok katı besiyerlerinin eritilmesi ve bazı besiyerleri sterilize edilir.

• **Kaynatma:** 100 °C' de 5-10 dakika kaynatma ile mikroorganizmaların vejetatif şekilleri, bazı bakterilerin spor şekilleri ölür. Bu nedenle her zaman iyi bir sterilizasyon sağlanamaz. Sterilizasyon için 100 °C' de 30 dakika tutmak gerekir. Bu yöntemle sterilizasyonda aletlerin tümünün su içine batmış durumda kaynatılması, kaynatılan aletlerin kullanılırken önceden steril edilmiş bir pensle tutularak sudan çıkarılmaları gerekir.

• **Tindelizasyon:** Şekerli besiyerleri ve jelatinli besiyerleri gibi yüksek sıcaklıkta bozulan maddeler benmari ve koch kazanları kullanılarak steril edilir. Bunun için; 56-100 0 C sıcaklıkta birkaç gün arkaya ısıtılarak steril edilirler. Isıtma süresi çoğunlukla günde 1 saat olmak üzere 3 gündür. Isıtma aralarında besiyerlerinin kalan sporların vejetatif şekile geçebilmeleri için 37 0 C' de etüvde ya da oda sıcaklığında bırakılması gerekir. Yapılan işlemlerde su seviyesinin içine konan kaptaki maddenin seviyesini aşmamasına dikkat edilmelidir.

• **Koagülasyon:** Bazı bakteriler için hazırlanan proteinli besiyerlerinin (Tüberküloz (Löwenstein-Jensen), Difteri (Loeffler) sterilizasyonu için kullanılır. Bu amaçla besiyerleri Koagülatör (İnspisatör) adı verilen cihazda 85 °C' de 1 saat ısıtılarak steril edilirler.

B- FİLTASYON İLE STERİLİZASYON

FİLTASYON İLE STERİLİZASYON

Kullanım Avantajı

- Yüksek sıcaklık ve kimyasal maddeler ile yapısı bozulan sıvıların sterilizasyonu,
- Toksin ve diğer mikrop ürünlerini elde etmek için kullanılır.
- Laboratuvarlarda güvenli çalışma ortamlarının oluşturulması sırasında hava filtrasyonu

Mekanizması

- Absorbsiyon ile sıvı ortamda bulunan mikroorganizmaların gözenekli bir çeperde veya zarda tutarlar. Sıvı ortama geçmelerini engellerler.

Kullanılan Malzemeler

- Değişik amaçlı ve gözenek çaplı filtreler

Sterilleme İçin Kullanılan Malzemeler

- Besiyerleri, aşılarda, serumlar, toksinler, çözeltiler

Sterilizasyon Şekli

- Membran filtre: Laboratuvar çözeltilerinin sterilizasyonu
- Hepa filtre: Oda, biogüvenlik kabinleri, maske vb.

C- RADYASYON İLE STERİLİZASYON

RADYASYON İLE STERİLİZASYON

Kullanım Avantajı

- Sıcaklık, kimyasal maddeler ve filtrasyonla steril edilemeyen maddelerin sterilizasyonunda kullanılır.

Mekanizması

- Mikroorganizmaların protein, enzim ve DNA yapılarını bozarlar. Ancak bazı bakterilerde direnç gelişimi görülebilir.

Kullanılan Malzemeler

- X ışınları, gama ışınları, UV ışınları

Sterilleme İçin Kullanılan Malzemeler

- Polietilen veya sentetik maddelerden yapılmış cihazların, bazı cerrahi malzemelerin ve besin maddelerinin saklanması için kullanılır.

Sterilizasyon Şekli

- UV ışınları, Cobalt 60, Cesium 137

2. KİMYASAL MADDELER İLE STERİLİZASYON

KİMYASAL MADDELER İLE STERİLİZASYON

Kullanım Avantajı

- Isı ve nemden etkilenen hassas maddelerin steril edilmesinde kullanılır.
- Aynı kimyasal madde, uygulamaya ve konsantrasyonuna bağlı olarak hem sterilizasyon hem de dezenfeksiyon amaçlı kullanılabilir.

Mekanizması

- Mikroorganizmaların sitoplazmik zar işlevlerini bozarlar, proteinleri denatüre ederler, enzim aktivitelerini bozarlar.

- Bazı kimyasal maddeler mikroorganizmalara karşı öldürücü (bakterisidal) veya üremelerini durdurucu (bakteriyostatik) etki gösterirler. Bu etki; kimyasal maddenin yapısına, yoğunluğuna, mikroorganizmalar üzerine etki süresinin uzunluğuna, uygulandığı ortamın sıcaklık, pH değeri ve ortamda bulunan diğer maddelere bağlıdır.

Kullanılan Maddeler

- Etilen oksit, Tyhmol,

Sterilleme İçin Kullanılan Malzemeler

- Bazı besiyerleri, ince delikli ve dar kanalcıklı aletlerin sterilizasyonunda kullanılır.

Sterilizasyon Şekli

- Etilen oksit sterilizasyonu: Otoklav veya benzeri cihazlarda belirli ısı, nem ve basınç altında polietilen, plastik, deri, kauçuk aletler ve bazı besiyerleri steril edilir.

KAYNAKLAR

1. Bilgehan H: Temel Mikrobiyoloji ve Başışıklık Bilimi. Barış Yayınları Fakülteler Yayınevi, İzmir, 179-202, 1996.
2. Temiz A: Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatipođlu Yayınevi, Ankara, 27-34, 1996.
3. Kılıçturgay K: Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji. Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 117-138, 1996.
4. <http://cdc.gov/od/ohs/biosfty.htm>. GUIDELINES
5. Bahar H: Laboratuvar Ortamlarında Dezenfeksiyon Politikaları, Simad Yayınları, Samsun, 73-78, 2002.
6. Töreci K: Dezenfektan Yöntemleri ve Seçimi. ANKEM Derg, 4: 364-371, 1990.
7. McDonell G, Rusell AD: Antiseptics and disenfectans: activity,actionand resistance. Clinical Microbiology Reviews, 12: 147, 179, 1999.
8. Özyurt M: Hastane Dezenfeksiyon Politikaları ve Yapılan Yanlışlıklar, Simad Yayınları, Samsun, 61-72, 2002.
9. Saniç A: Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon İlkeleri. Klimik Derg, 7: 13-16, 1994.

Gastroenteroloji

Bir bilimdalının bir gecede gelişmesi nadirdir, ancak modern gastroenterolojinin 6 Haziran 1822'nin sabahında, Dr. Wiliam Beaumont'un Alexis St. Mertin'in ağır yarasını tedavi etmesi sonucunda St. Mertin'in midesi ile kannduvar arasında oluşan fistül ile doğduğu söylenebilir. Beaumont'un yürüttüğü klasik deneyler dizisi, mide öz suyunda hidroklorik asit bulunduğunu kanıtladı, duygusal durum ile mide salgıların ve sindirim arasındaki yakın ilişkiyi saptadı, gastrik motor aktivitenin detaylarını çizdi ve daha birçok yönden gastroenterolojide fizyolojik araştırma saflarını açtı.

1902'de Wiliam Bayliss ve Ernest Starling'in Londra'da, barsak dokusundan alınan kimyasal bir maddenin (sekretin adını vermişlerdi) pankreastan salgılamayı uyardığını keşfetmeleri organ fonksiyonlarının sınırların yanı sıra, kimyasal maddeler tarafından da düzenlenebileceğini kanıtladı. Böylece endokrinoloji gastroenterolojinin bir dalı olarak doğdu. 1905'te William Hardy'nin yeni icat ettiği kelime 'hormon' (Yunancada 'aktiviteyi uyandırıyor' anlamına gelir) yayınlarda sekretin gibi bilinen bütün kimyasal haberciler için kullanıldı. Aynı günlerde John Edkins köpeklerde midenin alt kısmında mideden asit salgılanmasını uyaran bir kimyasal habercinin varlığını gösteriyordu.

Bundan sonraki yıllarda gastrointestinal fonksiyonları etkileyen diğer hormonlar bildirildi ve bugün iki düzinenin üzerinde tespit edilmiş veya var olduğu sanılan hormon vardır. Hiç şüphesiz daha birçoğu bulunacaktır. Sindirim sistemi hastalıklarında rol oynayan mekanizmaların anlaşılmasına yapılan katkılar arasında

Dragstedt ve Owens'in tanıttığı, peptik ülser tedavisi için vagus sinirlerinin kesildiği ameliyat da vardır.

1965'de Philadelphia'daki bir genetik laboratuvarında, B. S Blumberg arkadaşlarıyla birlikte şanseseri bir virüs antijeni keşfetti. Bu serum hepatiti (transfüzyon ile geçen bir karaciğer hastalığı) muammasının anlaşılmasına anahtar oldu ve 1976'da Blumberg'e Nobel Ödülü kazandırdı.

Sindirim sisteminin görüntülenmesini sağlayan x-ışını tekniklerine ek olarak, başka önemli teknik yenilikler arasında 1949'da I. J. Wood'un gastrik emme tüpü, 1958'de Margot Shiner'in intestinal (barsak) biyopsi tüpü, Menghini'nin karaciğer biyopsi iğnesi ve ösofagus (yemek borusu), mide, duodenum (onikiparmak barsağı), kolon (kalınbarsak), batin boşluğu, pankreas ve safra sistemi kanallarını gözlemlemeye, doku örnekleme ve hatta cerrahi manevralar yapmaya izin veren çok sayıda endoskop vardır.

Yirminci yüzyıl tıbbının en öndegelen ilerlemelerinden biri, midede asit yokluğuyla alakalı ve ölümcül bir hastalık olan pemisyöz anemiden sorumlu, düzeltilebilir bir besin eksikliğinin keşfidir. Uzun yıllar devam eden zorlu hayvan deneylerinden sonra, George Richards Minot bu hastalığa sahip bir insanın büyük miktarlarda karaciğer tüketimiyle iyileştiğini bildirdi. William Parry Murphy, George Whipple, Edwin Cohn, William Castle ve diğerlerinin aynı aynı yürüttüğü ancak aynı amaca yönelik çalışmalar sonunda, eksik olan faktörün bir vitamin (B12) olduğu keşfedildi ve kanıtlandı. Minot, Murphy ve Whipple 1934 Nobel Ödülünü aldılar.