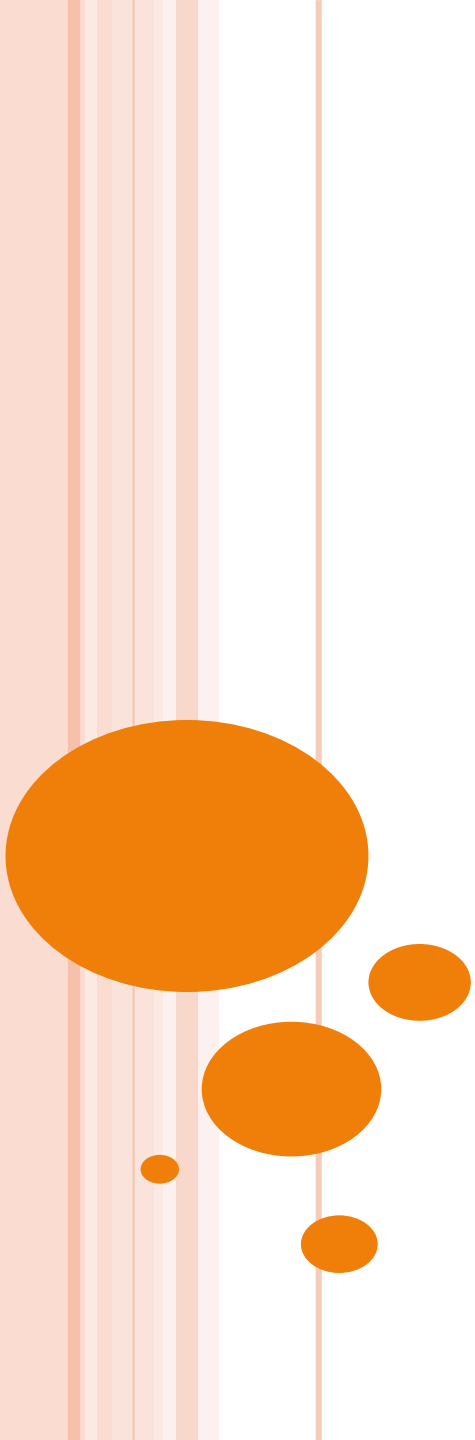




STERİLİZASYON

Doç.Dr.Emel MATARACI-KARA

STERİLİZASYON NEDİR?

- Bir maddenin üzerinde veya içinde bulunan tüm mikroorganizmaların vejetatif ve spor şekillerinden arındırılma işlemine sterilizasyon denir.
- Bir malzemenin steril kabul edilebilmesi için malzemelerdeki canlı mikroorganizma kalma olasılığının teorik olarak 10^{-6} veya altında olabilmesi için gereken şartların sağlanması **Sterilite Güvence Düzeyi** olarak tanımlanmaktadır.
- Bu işlem sonrasında hastalık yapan ve yapmayan tüm mikroorganizmalar öldürülmekte veya ortamdan uzaklaştırılmaktadır.



- Bir mikroorganizmanın teşhisi ancak **saf kültür** halinde üretilmesi ile mümkündür.
- Bu da ancak besiyeri, cam eşya ve diğer aletlerle **steril şartlarda çalışarak** diğer mikroorganizmaların karışmasını önlemekle olur.
- Bunun gibi **cerrahide** de enfeksiyondan korunmak için vücut dokuları ile temasa gelecek **aletlerin steril** olması gerekir.
- Vücuda **şırınga edilecek ilaçların** da steril olması lazımdır.
- Sterilizasyon işlemi sonucunda, mikroorganizmaların vejetatif ve spor şekillerinden arındırılmış olan madde veya eşya **steril** olarak tanımlanır.
- Steril madde veya aletlerin bu özelliklerini devam ettirebilmeleri için dış ortamla ilişkililerinin kesilmesi gerekir.

- Sterilizasyondan önce malzemeler sterilizasyona hazırlanır.
- Pipetler cam yada madenden yapılmış silindir şeklindeki kutulara konur ve kutuların ağzı kendi kapakları ile yada pamukla kapatılarak steril edilir.
- Tüp, balon gibi cam eşyanın ağzı pamuklanır. Kullanılan pamuk uzun elyaflı olmalı ve tozlu olmamalıdır. Bunun için yağı alınmamış pamuk kullanılır.
- Steril eşyanın ağzı ve üstü kapalı bulunduğundan, bunların dışı ellendiği halde iç kısmı dış ortamla temasa gelmez ve steril kalır.
- Steril olan bir ortama mikropların bulaşmasına kontaminasyon adı verilir.



STERİLİZASYON

ISI İLE STERİLİZASYON

KURU ISI İLE STERİLİZASYON

- *Kızıl dereceye ısıtma
- *Alevden geçirme
- *Kuru sıcak hava fırını (Pasteur fırını)

NEMLİ ISI İLE STERİLİZASYON

Sıcak su ile

- A) Kaynatma
- B) Tindalizasyon

Buharlı ısı ile

- A) 100 C de akım halinde buharla (Koch Kazanı)
- B) Doymuş Basıncılı Buharla (Otoklav)
- Koagülatör

İŞINLARLA STERİLİZASYON

ELEKTROMANYETİK İŞINLAR

- * UV
- *X İŞINLARI
- *GAMMA İŞINLARI

PARTİKÜLER İŞINLAR

- *BETA İŞINI (KATOD İŞINLARI)

FİLTRASYON İLE STERİLİZASYON

KİMYASAL MADDELER İLE STERİLİZASYON

- * ETİLEN OKSİT
- *FORMALDEHİT
- *HİDROJEN PEROKSİT
- *GLUTARALDEHİT
- Ve diğerleri....

ISI İLE STERİLİZASYON

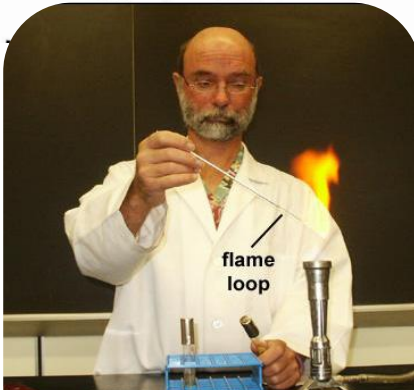
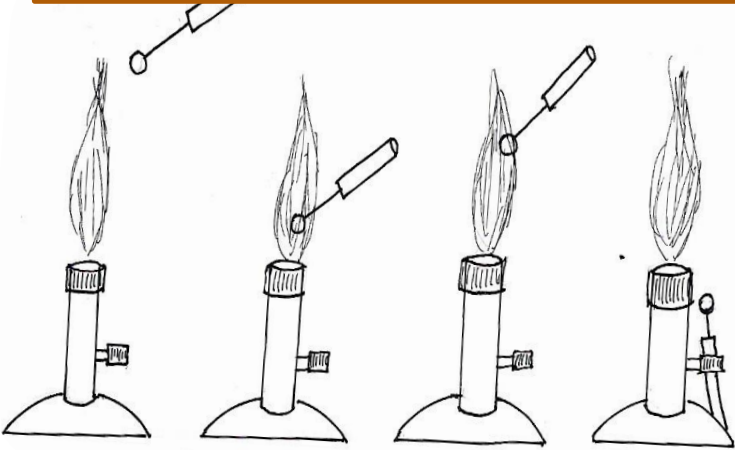
- En sık kullanılan, yapılması kolay, iyi sonuç veren, en ucuz sterilizasyon yöntemidir.
- Bu yöntemin uygulanmasında dikkat edilecek husus ısı ile sterilize olacak eşyanın yüksek ısıya dayanıklı olması gerekliliğidir.
- Uygulanan yüksek ısı etkisi ile hücre proteinleri koagule olarak, yani pıhtılaşarak canlılıklarını kaybederler.
- Sterilizasyon **kuru ısı** ve **nemli ısı** olmak üzere iki başlıkta yapılır.



KURU ISI İLE STERİLİZASYON

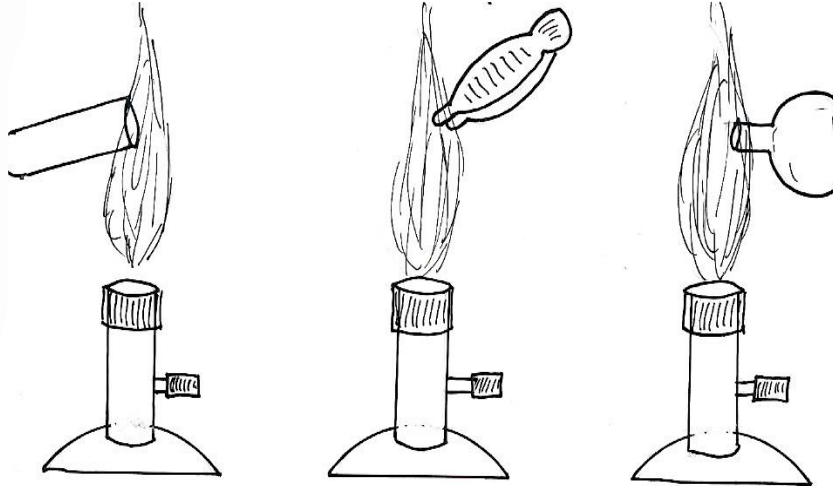
Kızıl dereceye kadar ısıtma

- İğne, Öze, Pens vd.



Alevden geçirme

- Bistüri, şırınga iğnesi, cam eşya ağzı, lam, lamel vd.



Kuru sıcak hava fırını (Pasteur fırını)

- 170° C'de 1 saat
- 160° C'de 2-2.5 saat

- Cam eşyanın (tüp, balon, Cam Petri kutusu, Pipet vd.)

sterilizasyonu

- Madeni eşyanın (Bistüri, pens, makas vd.) sterilizasyonu

- Toz ve yağ maddelerin sterilizasyonu

•ISLAK CAM EŞYAYA DİKKAT!!!

PASTEUR FIRINININ GÖRÜNÜMÜ



NEMLİ ISI İLE STERİLİZASYON

- Bu yöntemle kuru ısı ile steril edilemeyen, yani yüksek kuru ısıya dayanıksız malzemelerin sterilizasyonu yapılır.
- 1. Sıcak su ile sterilizasyon
- 2. Buharlı ısı ile sterilizasyon



1. SICAK SU İLE STERİLİZASYON

KAYNATMA

- 100°C'de 5- 10 dakika
- Cam eşya, pens makas gibi madeni eşya sterilizasyonu
- Bakterilerin vejetatif şekilleri + bazı bakterilerin spor şekilleri ölür.
- **Clostridium tetani !!!! Vd.**
- Vücut için uygulanmayan yöntemlerde kullanım

TİNDALİZASYON

- BENMARI (SU BANYOSU)
- 56-100°C'de 3 gün süreyle 30-60 dakika
- Bakterilerin vejetatif şekilleri + bazı bakterilerin spor şekilleri ölür.
- Yüksek sıcaklık derecelerinde bozulan maddelerin sterilizasyonu
- Kan, serum, proteinli maddeler için 56-60°C, şekerli çözeltiler 100°C vd.



2.BUHARLI ISI İLE YAPILAN STERİLİZASYON

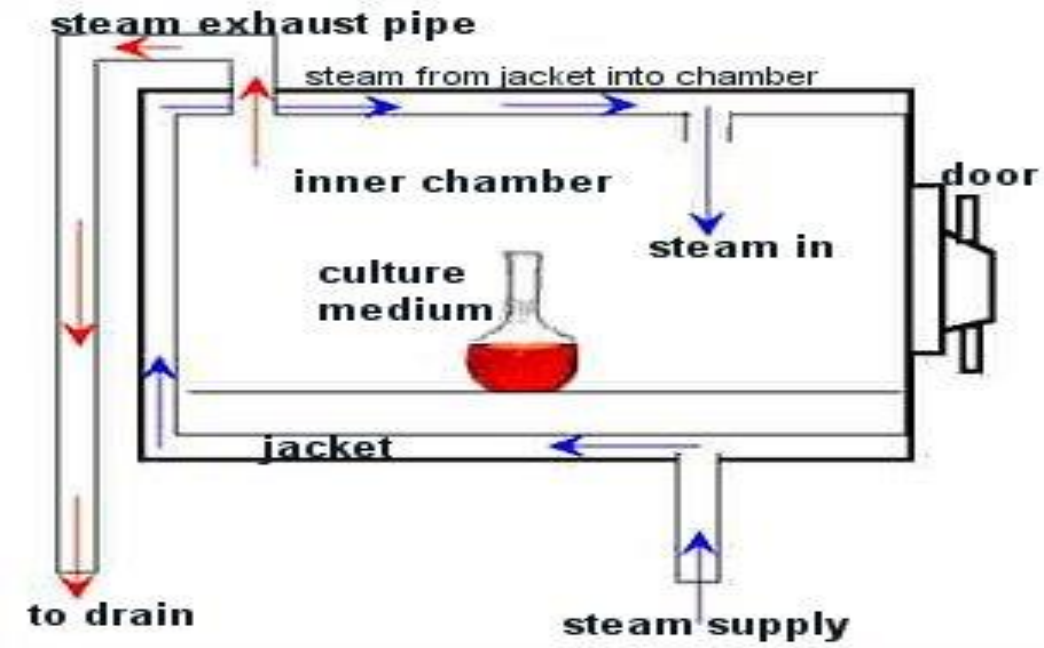
100°C'de akım halinde buharla sterilizasyon (Koch kazanı, Arnold Kazanı)

- Besiyerlerinin sterilizasyonu
- Bu alette sterilizasyon iki şekilde yapılır:
 - a)100 C' de 60 dakika ısıtmak
(Jelozlu besiyerlerinin eritilmesi, bazı besiyerlerinin sterilizasyonunda kullanılır)
 - b)100 C' de üst üste 3 gün ısıtmak (Tindalizasyon)

Doymuş Basıncılı buharla sterilizasyon (Otoklav)

- 120°C'de 1 atm basınçta 15-45 dakika,
- 134°C'de 1 atm basınçta 3 dakika (prion)
- Kuru ısı ile sterilizasyon yapılamayan yüksek ısıya dayanıksız malzemeler, sıvı maddeler ve besiyerleri, ısıya dayanıklı plastik malzemeler, ameliyat giysileri, atılacak olan kültürler, kontamine materyaller, çeşitli cerrahi aletler vs. sterilizasyonu.
- Çalışma prensibi düdüklü tencereye benzetilebilir.

OTOKLAVIN GÖRÜNÜMÜ



OTOKLAVIN GÖRÜNÜMÜ



OTOKLAVDA STERİLİZASYON KONTROLÜ

MAKSİMAL TERMOMETRE

•Bu termometrenin özelliği en yüksek ısı derecesine ulaştıktan sonra, ısı düşmesine rağmen ulaştığı göstergeyi muhafaza etmesidir.

•Ulaştığı ısıda aletin kaldığı süre hakkında bilgi vermez.

•Sterilizasyonun kontrolünde fiziksel bir yöntemdir.

KİMYASAL İNDİKATÖRLER

•Sticker tüpleri

(Belirli derecelerde eriyen maddeler kullanılır. Kükürt 120°C'de erir.)

•Browne tüpleri

(Kırmızı çözelti yeşil renge döner.)

•Boyali kağıtlar

(1gr kurşun karbonat, 0.1gr kükürt tozu, 0.3 gr lityum karbonat karışımı 120°C'de 5 dk siyaha döner.)



BİYOLOJİK KONTROL

•Bacillus stearothermophilus'un spor süspansiyonu



OTOKLAVDA STERİLİZASYON KONTROLÜ

Biyolojik kontrol:

- Bu amaçla 55-60°C'de üreyen termofil bir bakteri olan ***Bacillus stearothermophilus***'un spor süspansiyonu kullanılır. Bu bakterinin sporları **120 °C'de 12 dakikada** ölürlür ve bu süre de otoklavın çalışma süresine çok yakındır.
- Bu amaçla kullanılan indikatörlü ampullerin hazırlanması için öncelikle *Bacillus stearothermophilus*'un jeloz besiyerinde 4-5 günlük kültürü hazırlanır ve mikroskop incelemesi sonucu sporlar görüldükten sonra 1 ml' de 1×10^6 sayıda spor bulunacak şekilde süspansiyon hazırlanır.
- Hazırlanan bu süspansiyon içinde indikatör olarak **Brom-Krezolpurpur** bulunan **buyyon besiyerine** ilave edilir ve ampullere doldurulur.
- Hazırlanan bu ampuller otoklavın en büyük ve sıkı paketlerin arasına, değişik bölgelere yerleştirilir.



OTOKLAVDA STERİLİZASYON KONTROLÜ

Biyolojik kontrol:

- Sterilizasyon işlemi bittikten sonra ampuller 55-60 C'lik etüve koyularak bir gece bekletilir.
- Başlangıçta brom-krezolpurpurdan dolayı **mor renkte** olan ampuller sterilizasyon başarılı ise bakteri sporu kalmamış olacağından **mor renk** olarak kalır.
- Ancak sterilizasyon başarılı değilse ölmeyen sporlar vejetatif hale geçerek ürerler.
- Bu esnada asit açığa çıkardıkları için besiyerinin rengini mordan **sarıya** dönüştürürler.



KOAGÜLATÖR

- Serum ve yumurta ile hazırlanan proteinli besiyerlerinin pıhtılaştırılması ve sterilizasyonu için kullanılır.
- Genellikle çift çeperli ve madenden yapılmıştır. İki çeper arasında su bulunur.
- Elektrikle çalışır ve 85°C'ye ayarlıdır.



IŞINLARLA YAPILAN STERİLİZASYON

I- Elektromanyetik Işınlarla Yapılan Sterilizasyon

- a. Ultraviyole Işınlr (UV)
- b. X Işınları
- c. Gamma Işınları

II- Partiküler Işınlr

- a. Beta ışınları (Katod ışınları)



ELEKTROMANYETİK IŞINLARLA YAPILAN STERİLİZASYON

ULTRAVİYOLE IŞINLAR (UV)

- Mikroorganizmaları öldürücü etkileri çok fazladır.
- Derinlere nüfuz etme yetenekleri bulunmamaktadır (HAVA VE DIŞ YÜZEY STERİLİZASYONU)
- Ameliyathaneler ve bazı steril çalışma odaları bu yöntemle steril edilir. Aseptik çalışmalar yapılacak doku kültürleri, antibiyotik maddelerin hazırlanması ve düzenlenmesi, steril farmasötik ürünlerin dolum alanları vb. UV ışınlı lambalarla steril edilirler.

•DİKKAT!!!!

- Bu lambalar sadece direkt ışınlama ile etki gösterirler. Bu yüzden tahrip edeceği mikroorganizma ile aralarında hiçbir şey olmamalıdır. Işın materyalin üzerine direkt gelmelidir.
- UV ışınları gözü çok ağır şekilde hastalandırabilirler. Bu yüzden çalışacak kimselerin koruyucu gözlük veya kasket takmaları gerekmekte. Yada bu kişiler odaya girdiklerinde lambalar söndürülmelidir.
- Kültürler ekilirken inhibisyon yapmamaları için lambalar söndürülmelidir. Aksi halde UV ışınlarına maruz kalan besiyerinde bazı zararlı maddeler oluşabilir ve burada bakteriler iyi üreyemeyebilir.

X VE GAMMA IŞINLARI

- Özel jeneratörler tarafından üretilirler. Elde edilmeleri oldukça pahalıdır.
- Derinlere ulaşma özellikleri bulunmaktadır.
- Paketlenmiş hazır gıdaların, protez, sentetik kalp kapakçıkları ve cerrahi malzeme gibi özel malzemelerin sterilizasyonunda kullanılırlar.

PARTİKÜLER IŞINLAR

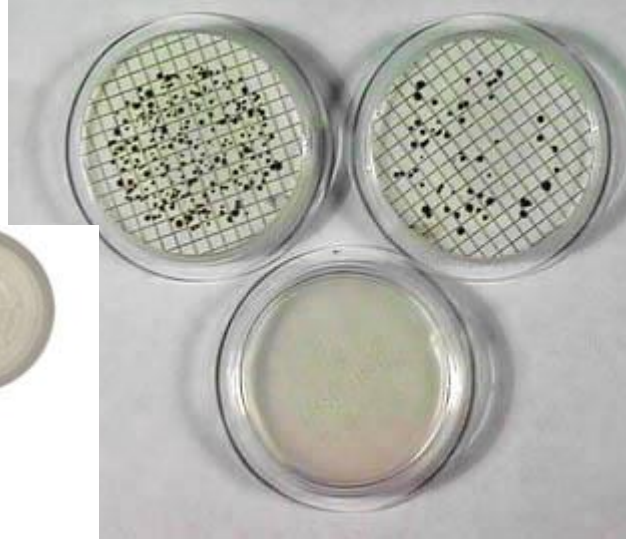
Beta Işınları (Katod Işınları):

- Kütleleri son derece küçüktür ve ışık hızına yakın hızla yer değiştirirler.
- Kütleleri oldukça küçük olduğundan hareket esnasında yollarından kolaylıkla saparlar ve bundan dolayı ortama diffüze olurlar.
- Bu esnada X ışını meydana getirirler.
- Beta ışınları oluşturmak için *kapasitron* kullanılabilir.
- Kapasitron, seri bağlanmış çok sayıda kondansatörden yapılıdır.



FİLTRASYON İLE STERİLİZASYON

- Bir sıvıda süspansiyon halinde bulunan katı paraıkların gözenekli bir çeperden yada zardan süzölerek ayrılmasına **filtrasyon** denir.
- Filtrasyon **filtre** denilen aletlerle yapılır.



FİLTRELER İKİ ŞEKİLDE MİKROPLARI ORTAMDAN UZAKLAŞTIRIRLAR

- 1-Mekanik Olarak Süzme:** Filtrenin gözenekleri bakterilerden küçük olduğu için bakterileri tutarlar. Bakteriler filtrenin üzerinde kaldığı için, süzüntü steril hale gelir.
- 2-Adsorbsiyon Yoluyla Süzme:** Bakteri yüzeyi ile, filtrenin elektrik yükünde farklılık nedeniyle, süzme işlemi sırasında bakteriler filtrenin deliklerine yapışarak adsorbe olurlar. Bu sayede süzüntüye geçemezler.



FİLTRASYONUN KULLANIM AMAÇLARI

- Fiziksel ve kimyasal özellikleri ısı ile bozulan maddelerin sterilizasyonu (Serumlar, bazı besiyerleri vs)
- Suların temizlenmesi ve muayenesi
- Sıvıların berraklaştırılması
- Havanın sterilizasyonu
- Canlı bakteri sayısının tespiti
- Sıvı kültürlerde mikropların oluşturduğu toksin veya metabolizma ürünlerini elde edilmesi
- Antimikrobiyal madde içeren farmasötik preparatların mikrobiyolojik kontrolünde antimikrobiyal maddenin etkisinin ortamdaki giderilmesi
- Virüslerin bakterilerden ayrılması, büyük virüslerin küçük virüslerden ayrılması, virüs çaplarının ölçülmesi



FİLTRE SİSTEMİNİN STERİLİZASYON KONTROLÜ

- Filtre ile süzülen sıvıdan alınarak besiyerlerine ekimler yapıp üreme olup olmadığı kontrol edilir.
- Ayrıca süzüntü kısmı ikinci defa filtreden süzüldükten sonra, bu filtre kağıdı alınarak besiyeri üzerine konulur.
- Belirli süre inkübasyondan sonra üreme olmaması sterilizasyonun tam olduğunu gösterir.



Mikrobiyolojide kullanılan başlıca filtreler:

- Diatom toprağı filtreler
- Porselen filtreler
- Asbset süzgeçli filtreler
- Cam tozlu filtreler
- Membran filtreler
 - a. Kollodyon zarlı filtreler
 - b. HEPA filtreler



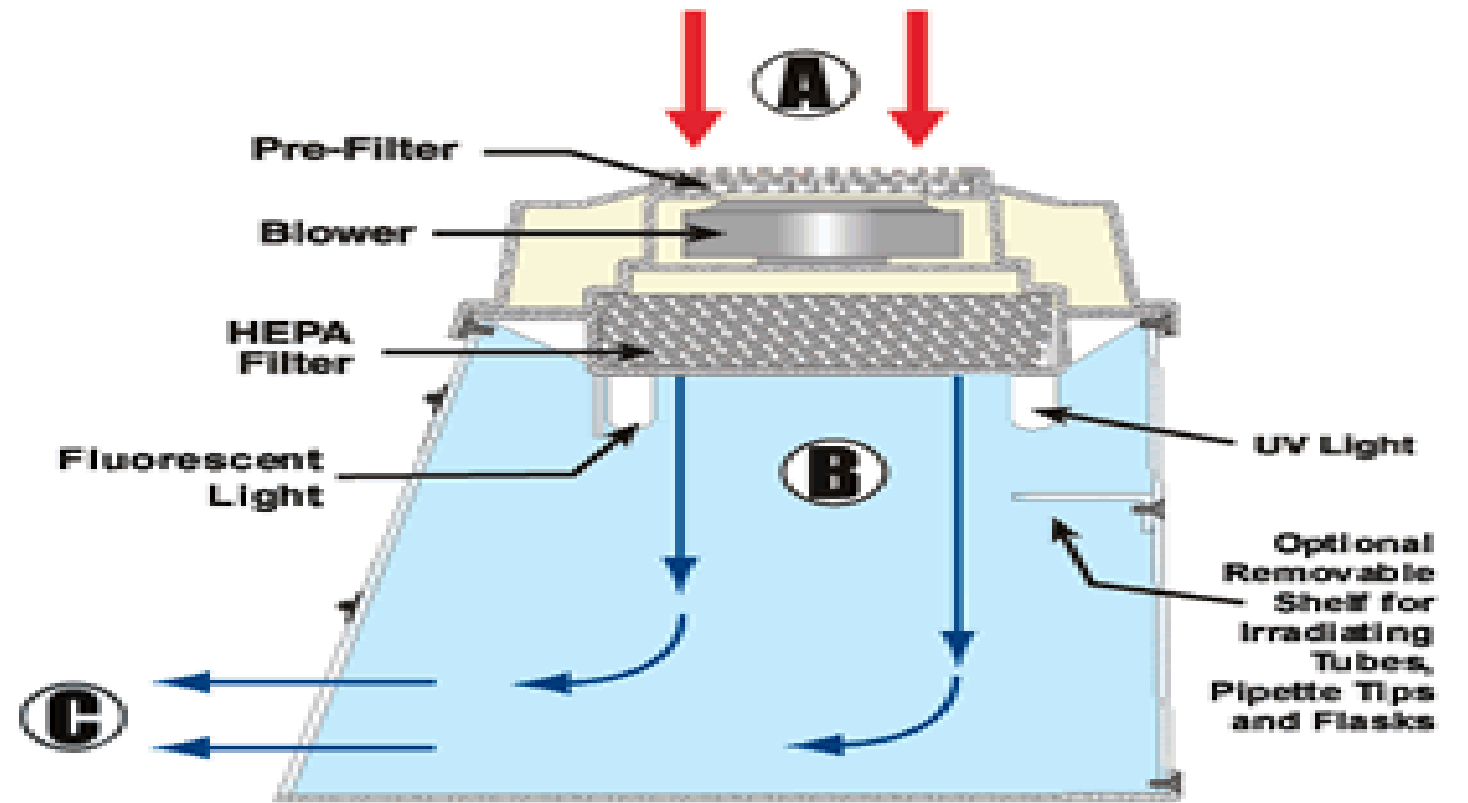
FİLTRASYON İLE STERLİZASYON

a. Kollodyon zarlı filtreler:

- Aseptik şartlarda hazırlandıklarından steril edilmeleri gerekmez.
- Kullanılan zar atılır ve her defasında yenisi kullanılır. Kollodyon zarlar cam veya madenden yapılmış iki parçası bulunan filtreler yerleştirilir. Üstteki parçanın üstünde bir boru vardır buraya basınç yapacak gazı sevk etmek üzere lastik boru takılır.

b) HEPA (High Efficiency Particulate Air) filtreler:

- Hastanelerdeki yoğun bakım odaları, ameliyathaneler gibi bütün bir odanın havasının sterilizasyonu, sanayide steril üretim alanları, Laminar Air Flow (LAF) denilen özel mikrobiyolojik güvenlik kabini gibi alanlarda kullanılır. 0.3 μ m çapında büyük partiküllerin %99.99'unu tutar.
- Kullanılan filtrenin por çapı çalışılan odanın mikrobiyolojik kategorisine göre belirlenir.
- HEPA filtreler sistemi 3 seneden 10 seneye kadar değiştirilmeden kullanılabilir. HEPA filtreler mikrop ve mantar üremesine elverişsiz çerçeveler içine yerleştirilmelidir.



KİMYASAL MADDELER İLE STERİLİZASYON

I. Sıvı ortama kimyasal maddeler eklenerek yapılan sterilizasyon

- Timol ile sterilizasyon
- Kloroform ile sterilizasyon

II. Gazlar ile yapılan sterilizasyon

- Etilen oksit
 - Formaldehit buharı
 - Hidrojen peroksit buharı
 - Plasma gaz
 - Klorin dioksit gazı
 - Ozon
 - Perasetik asit
 - Glutaraldehit
- 

Sıvı ortama kimyasal maddeler eklenerek yapılan sterilizasyon

TIMOL İLE STERİLİZASYON

- Yüksek ısıda bozulan sıvıların steril edilmesinde kullanılır.
- Sıvı maddeler içerisine % 1 oranında timol konularak yapılır.
- Timol ilave edilen sıvı bir gece oda ısısında bekletilir.
- Bu süre içinde hem bakteriler ölürler, hem de timol buharlaşarak, zararlı etkisi ortadan kalkar.

KLOROFORM İLE STERİLİZASYON

- Sıvı maddeler içerisine % 7.5 oranında kloroform ilave edilir.
- Ara sıra çalkalanarak bir gece bekletilir.
- Bu süre içerisinde ortamdaki mikroorganizmalar ölürler.
- Daha sonra hafifçe ısıtılıp, çalkalanarak kloroformun etkisi uzaklaştırılır.

GAZLAR İLE YAPILAN STERİLİZASYON

ETİLEN OKSİT İLE STERİLİZASYON

- Isıya dayanıksız , düşük dansiteli polipropilen, polivinilklorid gibi polimerik materyaller ve poliüretan paketleme materyalleri gibi havaya, su buharına ve gaza geçirgen materyallerle radyasyona dayanıksız maddelerin sterilizasyonunda kullanılır.
- Pirojenleri arındırmaz.
- Sterilizasyon belirli ısı, nem ve basınç altında uygulanır (%12 ETO-%88 Freon).
- Uygulamada etilen oksit konsantrasyonu 250-1500 mg/lt, ısı 30-65 C, temas süresi 1-30 saat, nem % 30-90 olarak belirtilmiştir.
- TOKSİK!!!! SOLUNUM DERİYE TEMAS OLMAMALI!!!**
- Tüm mikroorganizmalar ve bakteri sporları üzerinde öldürücü etkiye sahiptir. Sterilizasyon sonrası ortamdan uçarak uzaklaştığı için zarar verici etkisi yoktur.

FORMALDEHİT BUHARI İLE STERİLİZASYON

- Kontamine odaların dezeneksiyonu ve mikrobiyolojik güvenlik kabinlerindeki HEPA filtrelerin steril edilmesinde kullanılır.
- Sudaki % 40'lık çözeltisi formalindir.
- Polimerizasyona engel olmak için 20°C havanın litresinde en fazla 2 mg olmalıdır.
- Dezenfekte edilecek eşya her tarafı kapalı maden veya boyalı maddeden yapılmış odaya konur. Odaya formaldehit gönderilir ve oda 24 saat kapalı tutulur.
- KANSEROJEN!!!!**
- Materyaller üzerinde kalabilir. Odaya amonyak gönderilerek 1 saat tutulup eşya üzerinde kalan tahriş edici formaldehitin gönderilmesi sağlanır. Formaldehit amonyak ile birleşir ve ürotropin meydana gelir.
- Keskin kokusu nedeniyle hastanelerde ve sağlıkla ilgili kurumlarda kullanımı sınırlandırılmıştır.