

Mikrobiyel Gelişmenin Kontrol Altına Alınması

Nedeni

- Hastalık ve enfeksiyonların yayılmasını önlemek
- Bulaşmış konakçıyı mikroorganizmadan ayırmak
- Gıda ve eşyaları mikrobiyel bozulmaya karşı korumak

Nasıl gerçekleştirilir

- Mikroorganizmaların gelişmelerinin durdurulması (inhibisyon)
- Mikroorganizmaların öldürülmesi
- Mikroorganizmaların buldukları ortamdaki ayrılması

SİDAL ETKİ

MO hücrelerinin öldürülmesi

(bakterisidal/bakterisit, virüsidal, fungisidal, sporosidal)

STATİS/STATİK ETKİ

MO gelişiminin engellenmesi veya üremenin durdurulması

(bakteriyostatik, virüstatik, fungistasis)

Mikroorganizmaların fiziksel yöntemlerle kontrolü

➤ Isıl işlem

– Kuru ısı

- Kuru hava sterilizasyonu
- Alevden geçirme

– Nemli ısı

- Basınçlı Buhar
- Fraksiyone Sterilizasyon (Tyndalizasyon)
- Pastörizasyon
- Sterilizasyon

➤ Soğutma ve dondurma

➤ Işınlama

Isıl işlem

- Isı MO protein ve enzimlerinin ısıyla denatürasyonu ve ölümün gerçekleşmesini sağlar. En etkili yöntemdir.
- ✓ Nemli ısı hücre içeriğini pıhtılaştırır
- ✓ Kuru ısı oksitler

- Nemli ısı kuru ısıya göre daha çabuk ve etkili bir yöntemdir nedeni;
suyun ısı kapasitesi (ısıyı taşıma yeteneği) çok yüksek olduğundan nemli hava kuru havaya göre daha fazla ısı tutma yeteneğindedir
- ✓ Bu nedenle kuru ısıda bakteri sporları daha yüksek sıcaklıkta ve daha uzun sürede inaktif hale gelmektedir.
- ✓ Tuzlu ve asitli ortamlarda ısının etkisi daha yoğundur.
- ✓ Protein ve yağ ise mikroorganizmaları korur.

Kuru ısı

Kuru hava sterilizasyonu

- ✓ Yüksek sıcaklığa dayanıklı cam malzemeler buhardan etkilenen toz materyal, yağ, bazı aletler

160°C/2 saat 175°C/ 1.5 saat

Alevden geçirme

Öze, iğne, pens, bıçak gibi aletler bunzen alevinden geçirilir

Nemli ısı

- **Basınçlı Buhar**
 - Basınç altında kaynama derecesinin üzerinde elde edilen sıcaklıkla otoklavda uygulanır
 - Besiyeri, cam malzemeler ve filtreler
 - 121°C/ 10-15 dakika
- **Fraksiyone Sterilizasyon (Tyndalizasyon)**
 - Protein ve karbonhidrat gibi ısıya dayanıksız bileşenler
 - Malzemeler arka arkaya 3 gün süreyle 70-80°C de 1 saat ısıtma işlemine tabi tutulur.
 - Birbirini izleyen ısıtma işlemleri sırasında vejetatif hale geçen sporeler da bir sonraki ısıtmada öldürülür.

Pastörizasyon

- 100°C'nin altında uygulanan ısı işlemleri
- Süt, krema, meyve suları, bira, şarap gibi içecekler için uygulanır
- Pastörize ürün steril değildir, bakteri sporları ve ısıya dirençli bazı termofilik mikroorganizmaları korur
- Pastörizasyonda indikatör mikroorganizmalar
 - ✓ Q humması etmeni *Coxiella burnetii* (63°C/ 30 dakika ya da 72°C/ 15 saniye) ya da
 - ✓ tüberküloz etmeni *Mycobacterium tuberculosis* (69°C/15 dakika)

Sterilizasyon

- 100°C'nin üzerindeki ısı işlemler, mo tamamı inaktif olur
- Isıl işlem süresi artarken canlı kalan vejetatif hücre veya spor sayısı logaritmik olarak azalır
- Isıya karşı dirençte etkili faktörler
 - Vejetatif hücre veya spor formu
 - Ortamın pH'sı ve bileşimi
 - Mikroorganizma sayısı ve yaşı
 - Uygulanan sıcaklık-süre kombinasyonu

Desimal azalma süresi (D10):

Populasyondaki hücrelerin % 90'nı öldürmek için geçen süre

Sporlu bakteriler	Desimal azalma süresi (saniye)					
	105°C	120°C	130°C	140°C	150°C	160°C
<i>Bacillus cereus</i>	12.1	4.2	2.6	1.3	1.0	0.7
<i>Bacillus subtilis</i>	27.8	4.5	3.1	2.1	1.1	0.5
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	2857.0	38.6	8.8	3.9	2.4	1.4

Sabit ısıtma işlemi sonucunda sporların canlı kalma olasılıkları

Isıtma süresi (dakika)	Isıtma sonunda canlı kalan spor sayısı
0	10^5
D	10^4
2D	10^3
3D	10^2
4D	10^1
5D	10^0
6D	10^{-1}
7D	10^{-2}

10^{-1} = sporun canlı kalma olasılığı

Canlı spor olasılığı 1/10 veya % 10

Başlangıçta 10^5 adet spor içeren 100 test tüpü belirli bir sıcaklıkta 6D süresince ısıtıldıktan sonra tüplerin % 10'unda (10 test tüpünde birer tane) canlı spor var

- **Bakteri vegetatif hücreleri:** 80°C/ birkaç dakika
- **Bakteri sporları:** 100°C/ birkaç dakika-20 saat
- **Maya-küf vegetatif hücreler:** 60-65°C/ 5-10 dakika
- **Küflerin aseksüel sporları:** 70-75°C/ 5-10 dakika
- ***Mucor, Aspergillus, Penicillium*:** 100°C/ uzun süre

Soğutma ve dondurma

- ✓ Bazı bakteri, maya ve küf mantarı kültürleri, agarda 4-7°C'de aylarca canlı kalabilir (kültür muhafaza yöntemi)
- ✓ Çeşitli gıdalar, meyve ve sebzeler buzdolabında ve soğuk hava depolarında aynı prensiple saklanır
- ✓ Bakteri ve virüsler
 - 20°C (mekanik dondurucu)
 - 70°C (kuru buz ve donmuş CO₂)
 - 195°C'de (sıvı azot) canlı kalabilirler.
- ✓ Dondurulma sırasında bazı hücreler ölür, bir kısmı canlı kalır ve mikrobiyel metabolizma durur.

Işınlama

- ✓ Mikroorganizmalar radyasyonun direkt ve indirekt etkisi ile ölürler.
- ✓ Radyasyona karşı dirençte; radyasyonun dozu, mikroorganizma cinsi, spor veya vejetatif formda olup olmadığı, ortamın bileşimi ve sıcaklık etkili olmaktadır.
- ✓ Mikrobiyolojide en çok kullanılanlar ultraviolet (mor ötesi), X (röntgen) ışınları Gama ve katot ışınlarıdır.

Işınlama mikroorganizmalar üzerinde;

- ✓ mutarotasyona yol açmak
- ✓ öldürücü etki yaratmak
- ✓ hücre çoğalması ve gelişimini önlemek

şekilde doğrudan etkili olabilmektedir.

- Mikroorganizmaların ışınlamaya duyarlılıkları farklıdır. Bakteri sporları ve virüsler en dayanıklı formlardır.

Bazı mikroorganizmalarda redüksiyon sağlayan ışınlama dozları

		Doz (kGy)
Gram(-) bakteriler	<i>E. coli</i>	2
	<i>Moraxella sp.</i>	7
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<1
	<i>Salmonella enteridis</i>	4
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<1
Gram(+) bakteriler	<i>Bacillus sp</i> (vejetatif hücreler)	3
	<i>Bacillus cereus</i>	25
	<i>Clostridium perfringens</i> (sporlar)	25
	<i>Clostridium botulinum A</i> (sporlar)	25
	<i>Micrococcus sp.</i>	4
	<i>Staphylococcus aureus</i>	5-10
	<i>Streptococcus faecalis</i>	5
	<i>Leuconostoc sp.</i>	3
Mayalar ve küfler	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
	<i>Candida sp.</i>	4
	<i>Aspergillus flavus</i>	3
virüsler		>30

Mikroorganizmaların kimyasal yöntemlerle kontrolü

- ✓ Kimyasal yöntemler= antimikrobiyal maddeler
- ✓ Sürekli koruma sağlamaları nedeniyle fiziksel yöntemlerden daha avantajlı
- ✓ Fiziksel metotlar ancak uygulama zamanında etkili

Antimikrobiyal madde grupları

- ❖ Antibiyotikler/ilaçlar (kemoterapötikler)
- ❖ Antiseptik ve dezenfektanlar
- ❖ Koruyucular

Antibiyotikler/ilaçlar (Kemoterapötikler)

- Bakteri, mantar, bitkilerden elde edilir ya da kimyasal olarak sentezlenir
- Doğal olanlar sentetik bileşiklerden antibiyotik tanımı ile ayrılır.
- Antibiyotik:
 - canlı mikroorganizmaların bazı özel türleri tarafından sentezlenen maddeler, kendisini üreten mikroorganizmanın dışında kalan ve antibiyotik üretmeyen organizmaların çoğalmalarının engeller
- Doğal olanlar MO lar tarafından kolayca inhibe edildiğinden sentetik ve yarı sentetik antibiyotikler hazırlanır daha dayanıklı olmaktadır
- Kimyasal yolla sentezlenenler:
 - Sülfanomidler
 - Nitrofuranlar
 - izonikotinik asit hidrazid

➤ Mikroorganizmalar üzerindeki etki şekilleri

1) Bakterinin hücre duvarında parçalanma ve sentezini önleme

2) Sitoplazmik zarı etkileyerek hücre duvarında zedelenme

3) Ribozomların yapısını bozma ve protein sentezinin çeşitli aşamalarını etkileme

4) Nükleik asitlerin fonksiyonunu ve sentezini bozma

- Antiseptikler; çoğunlukla canlı organizmaya deri veya mukoz membran üzerine uygulanır, dahili olarak kullanılmaması gerekir
- Dezenfektanlar; genellikle cansız objelerdeki hastalık etkenlerinin bulaşmasını ve enfeksiyonun yayılmasını önlemek için kullanılır
- Antiseptik ve dezenfektanlar arasındaki temel farklılık, kullanılan **konsantrasyondur**.
 - Örneğin; sodyum hipoklorit (klorin) %0.02 oranında içme sularına ilave edildiğinde içilebilir. Ancak % 5'lik hipoklorit mükemmel bir dezenfektandır, fakat içilmez

Yaygın olarak kullanılan antiseptik ve dezenfektanlar

Kimyasal	Etki Tarzı	Kullanımı
Etanol (%50-70)	Proteinleri denatüre eder, lipidleri çözer	Deri antiseptiği
İzopropanol (%50-70)	Proteinleri denatüre eder, lipidleri çözer	Deri antiseptiği
İyot (%2) (%70 alkolde)	Protein inaktivasyonu	Deri antiseptiği
Gümüş nitrat	Proteinleri çöktürür	Genel antiseptik (özellikle yeni doğanların gözlerinde)
Klor (Cl ₂) gaz	Kuvvetli okside edici bileşik ((HClO formunda)	Genel dezenfektan (özellikle içme sularında)
Civa klorid	Sülfid gruplarıyla reaksiyona girip proteinleri inaktif eder	Dezenfektan (çoğunlukla da deri antiseptiği olarak kullanılır)
Formaldehit (%8)	NH ₂ , SH ve COOH gruplarıyla reaksiyona girer	Dezenfektan, endosporları öldürür
Etilen oksit (gaz)	Alkileştirici bileşik	Dezenfektan, lastik ve plastik gibi ısıya hassas objelerin sterilizasyonu
Fenolik bileşikler	Proteinleri denatüre eder, hücre membranını parçalar	Düşük konsantrasyonda antiseptik, yüksek konsantrasyonda dezenfektan
Deterjanlar (dörtlü amonyum bileşikleri)	Hücre membranını parçalar	Dezenfektan ve deri antiseptiği

Fenol ve fenolik bileşikler

En iyi yüzey dezenfektanı
% 2-3'lük solusyonları kullanılır

- Bakterisit
- Bakteriyostatik
- Fungisit etki

Deri ve yara dezenfeksiyonu

- hücre proteininin yapısını bozar
- sitoplazmik zardaki oksidaz ve dehidrogenaz enzimlerinde inaktivasyon

Organik solventler

- Genel olarak sporlar üzerinde etkisizdir
- Etil alkol % 50-70 konsantrasyonda kullanılır (vejetatif hücreler için)
- Metil alkolün etkisi zayıf ve zehirli
- Aseton, eter, toluenden sıvıları muhafaza etmek amacıyla yararlanılır
- Alkoller protein yapısı ve lipidleri eritip sitoplazmik zarı bozarak etki gösterirler

Halojen ve bileşikleri

- ✓ Klorid (sodyum-kalsiyum hipoklorid) ve kloraminlerin sulu çözeltileri kuvvetli oksidan etkiye sahiptir, gaz halinde klor kullanımı zahmetlidir ve özel ekipmanları gerektirir
 - Şehir sularında
 - Havuzlarda
 - Evlerde
 - Süt ve gıda endüstrisinde dezenfeksiyon
- ✓ Açığa çıkan serbest klor ve oksijen hücre proteinleriyle birleşerek mikroorganizmaları öldürür.
- ✓ İyot ve bileşikleri tüm bakteri çeşitleri, spor, fungus ve virüslere karşı etkili
 - Tentürdiyod ve iyodoforlar cilt dezenfeksiyonu ve havuzlarda

Ağır metaller ve bileşikleri

- ✓ Tek başlarına veya bileşikleri mikrobisidal ve mikrobistatik etkili
- ✓ En etkili olanlar civa, gümüş ve bakırdır
 - Civa ve bileşikleri el dezenfeksiyonunda serum ve aşıllarda koruyucu
 - Gümüş nitrat lokal antiseptik olarak burun, boğaz, göz dezenfeksiyonunda
 - Bakır bileşikleri tarımda algisid ve fungusid olarak kullanılır
- ✓ Ağır metaller enzim sistemini bozarak etki gösterirler, özellikle civa sülfidril (-SH) grupları ile birleşir

Deterjanlar

- ✓ Yüzey aktif maddeler, yüzey gerilimini düşürme / ıslatma özelliklerine sahip
 - Cilt dezenfeksiyonunda
 - Süt, gıda ve meşrubat endüstrisinde temizleme maddesi olarak kullanılır
- ✓ Deterjanların yapısında hidrofilik (suda çözünen) ve lipofilik/hidrofobik (yağda çözünen) gruplar mevcut
- ✓ Mikroorganizmalar üzerindeki etkisi
 - Bakteri zarının fonksiyonlarını (yarı geçirgenlik özelliği) bozar
 - Enzimleri denatüre eder.

✓ **Katyonik deterjanlar:**

- pozitif elektrikle yüklü iyonlar vererek çözünürler
- Gram pozitif ve negatif bakteriler, protozoolar ve funguslara etkilidir.
- **Dörtlü amonyum bileşikleri-zefiran**

✓ **Anyonik deterjanlar:**

- Suda çözündükleri zaman negatif elektrikle yüklü iyonlar verir
- Gram-negatif bakterilere karşı etkisi zayıftır.
- **Sabunlar**

✓ **İyonik olmayan deterjanlar:**

- İyonize olmazlar.
- Etkili değildir, ancak derideki bakterileri uzaklaştırır
- Büyük bir kısmı sıvı formdadır.

Aldehitler

- ✓ Glutaraldehit ve formaldehit
- ✓ Geniş spektrumlu kuvvetli bir antimikrobiyel aktiviteye sahiptir. Vejetatif bakteri, fungus sporları ve virüslere karşı etkilidir
- ✓ Tıbbi aletlerin sterilizasyonunda kullanılır.
- ✓ Bakteri proteinlerinin karboksil, hidroksil ve sülfidril gibi fonksiyonel gruplarıyla reaksiyona girer ve denatüre eder.

Gaz yapısında sterilizant bileşikler

Etilen oksit en fazla kullanılan

- ✓ Kullanım alanları
 - Kapalı odaların sterilizasyonu
 - Laboratuvar, hastane ve endüstride nemden etkilenen materyallerin sterilizasyonu
 - Isıya dayanıksız aletlerin sterilizasyonu kullanılır.
- ✓ Bakteri sporlarını da öldürür
- ✓ Enzim inaktivasyonu, DNA / RNA'da bozukluklar

Koruyucular

- ✓ Çoğunlukla gıdalara ve tıbbi bileşiklere (aşı) ilave edilir
- ✓ Tüketildiğinde zehirleyici etki göstermemelidir.
- ✓ Mikroorganizmalar üzerindeki etkisi
 - Sitoplazmadaki proton konsantrasyonunu artırır
 - DNA replikasyonunu engeller
 - Protein sentezini engeller
 - Enzimleri inhibe eder

Koruyucular

Koruyucu	Konsantrasyon	Kullanım alanı
Propiyonik asit ve propiyonatlar	% 0.3	Ekmek, kek ve sert peynirlerde antifungal madde
Sorbik asit ve sorbatlar	% 0.2	Peynir, jöle, şurup ve keklerde antifungal madde
Benzoik asit ve benzoatlar	% 0.1	Margarin, alkolsüz içki ve soslarda antifungal madde
Sodyum diasetat	% 0.3	Ekmeklerde antifungal madde
Laktik asit	Değişken	Peynir, yayıkaltı, yoğurt ve salamura gıdalarda antimikrobiyel
Metil, propil ve heptil paraben	% 0.04-0.2	Bira, meyve esaslı içecekler, reçel, jöle, şurup ve şarapta antimikrobiyel
Sülfür dioksit, sülfidler	% 0.02-0.03	Kurutulmuş meyveler, üzüm ve melasda antimikrobiyel
Sodyum nitrit	% 0.02	Tütsülenmiş et ve balıkta antibakteriyel
Sodyum klorit	Değişken	Et ve balıkta mikrobiyel bozulmayı engelleme
Şeker	Değişken	Reçel, jöle ve şuruplarda mikrobiyel bozulmayı engelleme
Tütsüleme		Et ve balıkta mikrobiyel bozulmayı engelleme