

MİKROBİYOLOJİK ANALİZLERE HAZIRLIK

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.
- Elllerinde kesik, yara olan personel laboratuvarda eldiven ile çalışmalıdır.

1.1. Laboratuvar Kıyafetleri ve Taşınması Gereken Özellikler

➤ Önlük temiz olmalıdır.
➤ Önlük sadece laboratuvarda kullanılmalıdır.
➤ Önlüğün yanmaz kumaştan olması tercih edilmelidir.
➤ Önlük boyunun diz kapağını örtecek uzunlukta, kol boyunun da uygun uzunlukta ve lastikli olması tercih edilmelidir.

➤ Laboratuvarda kullanılacak önlüğün cepsiz olması tercih edilmelidir.
➤ Önlük laboratuvarda 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.
➤ Laboratuvarda kullanılacak ayakkabı ve terlikler su geçirmez, kolay temizlenebilir, kaymayan, topuksuz özellikte olmalı ve yalnızca laboratuvarda 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 materyalleri 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 elektik şalteri kapatılmalıdır.
➤ Pipetleme yapılırken üflenmemelidir.
➤ Etiket kullanılacaksa, etiketler dile 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.
- Laboratuvar da 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.
- Laboratuvar da 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.
- Laboratuvar da 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 laboratuvar da 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 uyarmalıdır.
- UV lambasının kontrol düğmesinin dışarıda olması güvenlik açısından önemlidir (Resim 1.1).



Resim 1.2:UV uyarısı

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 malzemeden 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 konulur 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 lamalar 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.

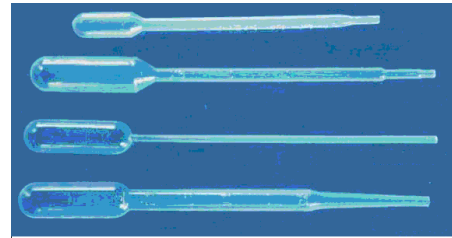
Pipet Çeşitleri

- **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.).



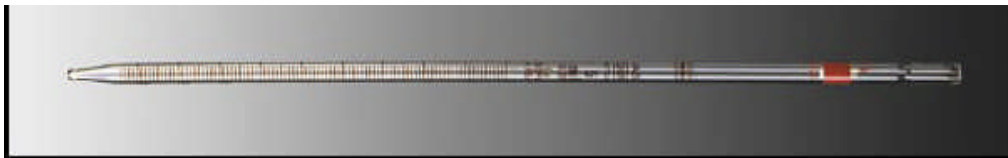
Resim 2.3: Otomatik pipet



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.

Pipetlerle aşağıdaki şekilde çalışılmalıdır



Resim 2.7: Numunenin pipete çekilmesi



Resim 2.8: Pipetten petri kutusuna aktarma

- 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 çözültiden 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 aktarılacak 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).

Behrerler; 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: Behrer

Resim 2.12: Silindir (mezür)

Behrerler mikrobiyoloji laboratuvarında;

Isıtma,

- Karıştırma,
- Tartım,
- Aktarma,
- Besiyeri ve çözelti hazırlama,

- Örnek kabı olarak kullanılır (Resim 2.11.).

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

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.



Resim 2.13: Drigalski spatülü

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.

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 alaşımlı 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.).



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 konulur, 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

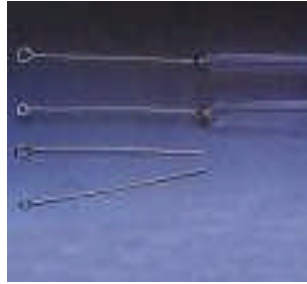
Öze; numunelerin transferinde kullanılan, ucunda nikel-krom veya platinden yapılmış, yuvarlatılmış tel bulunan sap kısmı ısıdan etkilenmeyen bir malzemedir. Bu telin uzunluğu ortalama 5 cm, ucundaki çemberin çapı ise 3–4 mm olmalıdır. Uç kısmı halka şeklinde kıvrılmış platin veya paslanmaz telden, sapı 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 üretilmeye 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.).

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



Resim.2.23: Eküvyon



Resim 2.24: Puar

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

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



Resim 2.25: Porselen havan ve havan eli



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).

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 2.27: Otoklav



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 cihazı

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 termostatlý 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 karıştırıcısı

Koloni sayıcı; panosuna petri kutusu yerleştirilerek koloni sayımının yapılabilđi aaraçtır. 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.

2.3. Sterilizasyon

2.3.1. Tanımı

Bir ortamdaki tüm mikroorganizmaların öldürülmesi ya da ortamdan 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 içinin kontamine olmaması

sağlanır.

Tüpler;

- Pamuğun cam içinde kalan kısmı mümkün olduğu kadar lif uçları bulundurmayacak şekilde katlanır.
- Pamuğun tüp içindeki kısmı 1.5-2 cm, dıştaki kısım ise 1 cm olmalıdır.
- Pamuktan tutulup çekildiğinde tüpü de kaldırarak sıkılıkta 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 pamuklanması 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 yıkayıp kuruduktan sonra kâğıda sarılarak etüvde sterilizasyona bırakılır. Cam, metal, porselen malzemeyi sarmada samanlı kağıt veya parşömen kağıdı kullanılır.

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)
 - Basıncsız buharla sterilizasyon
 - Kaynatma
 - Tindalizasyon

- o 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**
- o **Basıncılı 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.
- o **Basıncsız buharla sterilizasyon;**
 - o **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.
 - o **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.
 - o **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 ısı 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.

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 yoğurtta 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 çözündürülür.
- 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 çözündürülür.
- pH' = 7.0'a ayarlanır.
- Tüplere veya erlenmayerlere 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 hâldekilerin 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 ağız 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 çözeltisidir. Hazırlanışı;

- 10 g pepton, 5 g sodyum klorür, 9 g disodyumhidrojen fosfat (Na₂HPO₄.12H₂O) ve 1.5 g potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) 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 (NaHCO_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 yararlanılır. 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 çözeltilisi 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:**

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

250 ml'lik balonjojeye aktarılır. Bir miktar saf su ile NaCl çözündürülür, NaCl tamamen çözündükten 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.

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

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

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

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

1.125 g NaCl + 0.0525 g KCl + 0.06 g CaCl₂ + 0.025 g NaHCO₃ ayrı ayrı tartılarak 500 ml'lik balonjojeye aktarılır. Bir miktar saf su ile bileşenler çözündürülür, bileşenler tamamen çözündükten 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 folyalarla sarılarak tüpler tüplüklere yerleştirilir. Erlen ve tüplükler otoklav sepetine yerleştirilerek sterilizasyona bırakılır.



Resim 4.1: Otoklav sepeti



Resim 4.2: Otoklav

5. ÇÖZELTİLERİN STERİLİZASYONU

5.1. Basınçlı 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,
- Doldurulmuş 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 gerçekleşmez. 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 yaptığı anda 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 sönünceye 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.
➤ Fiş çekilerek otoklavın kullanım talimatına göre su boşaltılır.
➤ Raflar temizlenir.

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 yanıltacak mikroorganizmaların incelenecek kültürle 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. Laboratuvarında bekle çalışma sırasında meydana gelen kazalar çok tehlikeli sonuçlara neden olabilir. Mikrobiyoloji laboratuvarında bunzen beki ile çalışma aynı zamanda sterilizasyon yöntemlerinden birisidir.

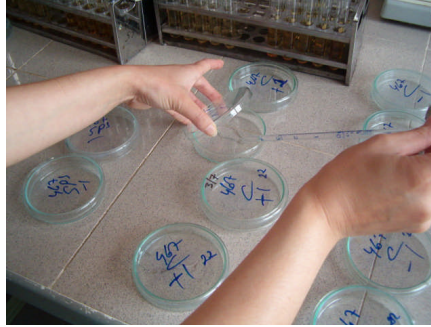
Laboratuvarında bunzen beki ile çalışmada aşağıdaki işlemlere dikkat edilmelidir

- Çalışmaya başlamadan önce hortum ve vana bağlantıları gaz kaçağı açısından kontrol edilmelidir.
- Mikrobiyolojik çalışmaya başlamadan önce laboratuvar tezgâhlarının dezenfeksiyon etkisinin artırılması için kullanılmalıdır.
- Laboratuvarında 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

Not: Bu konuda detaylı bilgi “Kültür Elde Etme” modülünde verilecektir.

➤ **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 ağzı alevden geçirilerek kapak ya da pamuk tıkaç yerleştirilir.

7.3. Çalışma Ortamını Dezenfekte Etme

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 korozyonluk (aşındırıcı) gibi kullanımda istenmeyen özellikleri de artar. **Dezenfektan etki:** kimyasal bileşimin konsantrasyonu, temas süresi, pH, sıcaklık, nem ve organik maddelerin varlığına göre değişiklik gösterir.

Mikrobiyoloji laboratuvarında yaygın olarak kullanılan kimyasal 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 hazırlanır, metal yüzeylerde kuvvetli korozyon 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 :** Laboratuvarlarda 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 korozyon 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 sprej 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.