

# Bakterilerin Üremelerine Etkili Faktörler <sup>1</sup>

**Prof. Dr. Mustafa ARDA**

01. Genel Bilgiler
02. Fiziksel Faktörler
  - 02.01. Isının Etkisi
  - 02.02. Radyasyonun Etkisi
    - 02.02.01. İyonizan Olmayan Radyasyonlar
    - 02.02.02. Güneş Işınları
    - 02.02.03. İnfrared Işınlr
    - 02.02.04. Ultrasonik Vibrasyonlar
    - 02.02.05. İyonizan Radyasyonlar
    - 02.02.06. Elektromagnetik İyonizan Radyasyonlar
    - 02.02.07. Partiküler Radyasyonlar
  - 02.03. Yüzey Geriliminin Etkisi
  - 02.04. Osmotik Basıncın Etkisi
  - 02.05. Hidrostatik Basıncın Etkisi
  - 02.06. Rutubetin ve Kurumanın Etkisi
  - 02.07. Elektriğin Etkisi
03. Kimyasal Faktörler
  - 03.01. Oksijenin Etkisi
  - 03.02. Redoks Potansiyelin Etkisi (Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyeli)
  - 03.03. Hidrojen İyon Konsantrasyonunun Etkisi (pH, Potansiyel Hidrojen)
04. Biyolojik Faktörler
05. Mekanik Faktörler
  - 05.01. Çalkalamanın Etkisi
  - 05.02. Filtrasyon
  - 05.03. Santrifugasyon
  - 05.04. Ezmek
  - 05.05. Basınç Uygulamak
  - 05.06. Çalkalamak
  - 05.07. Vibrasyon

## 01. Genel Bilgiler

Mikroorganizmalar buldukları ortamlarda (kültürler de dahil), optimal koşullar altında, cins ve türlerinin genetik karakterine göre, iyi bir üreme ve gelişme gösterirler. Ancak, bu uygun şartlar, aynı durumda uzun bir süre devam etmez ve belli bir zaman sonra, mikroorganizmaların üremeleri sınırlanır ve durur. Eğer, olumsuz koşullar değiştirilmezse veya iyileştirilmezse, mikroorganizma popülasyonunda ölümler başlar, giderek artar ve canlı mikroorganizma sayısında azalmalar meydana gelir. Ancak, canlı kalmayı başarabilen mikroplarda da, morfolojik bazı değişiklikler (şekillerinde bozukluklar: filamentöz, branşlı, pleomorfik ve diğer aberent formlar) ortaya çıkar.

Yukarıda bahsedilen durumlar, genellikle, doğal koşullar altında meydana gelen bazı olumsuz faktörlerin mikroorganizmaların üremeleri üzerine olan etkilerini kapsamaktadır.

---

<sup>1</sup> "[Temel Mikrobiyoloji; Genişletilmiş İkinci Baskı. Prof. Dr. Mustafa Arda. Medisan Yayın Serisi no 46. 2000. Medisan Yayınevi, Ankara](#)" adlı kitabın 09. bölümüdür.

Böyle etkiye sahip faktörleri başlıca 4 grupta toplamak mümkündür. Bunlar da,

- 1) Fiziksel faktörler
- 2) Kimyasal faktörler
- 3) Biyolojik faktörler
- 4) Mekanik faktörler

## **02. Fiziksel Faktörler**

Yeryüzünde (toprakta, sularda, göllerde, denizlerde, havada, evlerde, barınaklarda, vs.) ve canlıların vücudunda, değişik fiziksel, kimyasal biyolojik ve doğal koşullara adapte olmuş, yaşayan ve üreyen mikroorganizmalar bulunmaktadır. Bakteriler, 20° Güney paralelinden 90° Kuzey paraleline kadar, okyanus sularında, değişik derinliklerde ve ortamlarda oldukça farklı hidrostatik basınç altında kolayca yaşayabilecek tarzda bir adaptasyon göstermektedirler. Bazıları da sıcak su kaynaklarındaki 100°C civarındaki sıcaklıkta ve bir kısmı da donma derecesindeki çevrede kolayca yaşayabildikleri belirlenmiştir.

Doğada bu kadar değişken, fazla ve olumsuz koşullara direnç gösteren ve adapte olan mikroorganizmalardan ancak çok azı canlılarda hastalık oluşturabilmektedir. Çünkü, ekseri patojenlerin üreyebildiği sınırlar, üzerinde veya içinde yaşadıkları canlılarınkı ile bir uyum göstermektedirler. Maksimal veya minimal sıcaklık sınırlarına yaklaşıldıkça veya geçildikçe, mikroorganizmalar üreseler bile virulens faktörlerinin etkinliğinde inhibisyon veya zayıflamalar oluşmaktadır. Kapsüllü mikroplar, bakteri ve mantar sporları çevre koşullarına çok dayanıklıdır ve uzun süre (yıllar) canlı kalabilir ve infeksiyöz yeteneklerini koruyabilirler.

Mikroorganizmaların üremeleri üzerine etkileyen önemli fiziksel faktörler aşağıda özet olarak belirtilmiştir.

### **02.01. Isının Etkisi**

Mikroorganizmalar üzerine ısı başlıca iki tarzda etkilemektedir.

A) Sıcaklığın etkisi: Ortamın sıcaklığı, mikroorganizmaların üremeleri üzerine büyük ölçüde etkiler. Mikroplar, genellikle, kendi türlerine özel sıcaklık limitleri (minimal ve maksimal) içinde gelişebilir ve üreyebilirler. Bu sınırlar arasında, üremenin en iyi meydana geldiği optimal sıcaklık bulunur. Bu uygun sıcaklıktan minimal veya maksimal hudutlara doğru gidildikçe üremenin yavaşladığı ve bu sınırları geçince üremenin durduğu görülür. Optimal sıcaklık maksimalden 5-10 derece daha düşük olmasına karşın, minimal sıcaklıktan genellikle 20-30 derece daha yüksektir. Maksimal limitin aşılması halinde yalnız üremede durma meydana gelmez, sıcaklığın yüksekliğine göre, mikroplarda az veya çok oranda ölümler de başlar. Buna karşılık minimal sıcaklık sınırının geçilmesi halinde üremede duraklama meydana gelir. Ölümler, sıcaklığın düşme hızına ve sıcaklık derecesine göre çok az olur. Mikroorganizmalar arasında sıcaklık limitleri bakımından bazı ayrılıklar vardır. Bu durum, mikropların doğal adaptasyon ve seleksiyonları sonu oluşmuştur. Patojenik mikroplar, en iyi gelişme ısını (optimal sıcaklık), adapte oldukları konakçının içinde bulurlar. Diğer bir deyimle, bu tür mikroorganizmalar en iyi, konakçı sıcaklığında ürerler. Bu nedenle de, hastalık yapıcı karakterde olan mikropların üreme sıcaklığı varyasyonları çok geniş olmayıp,

belli ve dar limitler arasında bulunmaktadır. Buna karşın, saprofitikler ve doğada serbest yaşayan diğer mikroorganizmaların, sıcaklık genişlik limitleri arası daha geniştir.

Optimal sıcaklık, mikropların gelişmesi ve üremeleri için genellikle iyi olmasına karşın, bazı yan ürünlerin (çeşitli metabolitlerin, enzim, toksin, endüstride değeri olan ürünlerin, vs.) sentez edilebilmesi için her zaman uygun olmayabilir. Optimal sıcaklık, hücre içinde enzimlerin aktivitesi için de genellikle, uygun kabul edilir. Sıcaklık arttıkça veya azaldıkça, enzim aktivitesinde de değişiklik oluşacağından, metabolizma üzerine olumsuz yönde etkiler. Mikroorganizmalar üreme sıcaklığı derecelerine göre başlıca 3 bölüme ayrılırlar:

a) Soğuk seven (psikrofil) mikroplar: Toprak, su, deniz ve göllerde yaşayan bazı mikroplar ile balıklarda ve soğuk kanlı hayvanlarda hastalık oluşturan mikroorganizmalar bu bölüme girerler. Balıklarda hastalık meydana getiren gerek Gram negatif (*A. salmonicida*, *C. psychrophila*, *H. piscium*, *V. anguillarum*, vs.) ve gerekse Gram pozitif (korinebakteri, mikobakteri türleri, vs.) mikroplar 15-20°C arasında iyi gelişme olanaklarına sahiptirler. Soğuk seven bazı mikroplar ve mantarlar buzdolabı sıcaklığında (+4 °C' de) kolaylıkla üreyebilir ve gıdaları bozabilirler. Bu nedenle psikrofilik mikroorganizmaların enzimleri -5°C ile +20 °C' ler arasında aktivite gösterebilirler.

b) Ilık seven (mezofil) mikroplar: Bu mikroplar, genellikle 20-45 °C' ler arasında gelişme ve üreme kabiliyetlerine sahiptirler. İnsan ve hayvanlarda hastalık oluşturan mikroorganizmaların büyük bir kısmı, bu gruba dahildirler. Bu nedenle optimal sıcaklıkları 35 °C ile 42 °C' ler arasındadır. Mezofil mikroorganizmalar, 65 °C' de 20 dakikada ve pastörizasyon sıcaklığında (70 °C' de bir dakikada) ölürler.

c) Sıcak seven (termofil) mikroplar: Termofilik mikropların gelişme ve üreme sıcaklıkları, mezofillerin çok üstündedir (50-60 °C). Mezofiller bu sıcaklıkta yaşayamazlar. Bu tür mikroplara, sıcak su kaynaklarında, gübrelerde ve tropikal ülkelerde rastlamak mümkündür. Termofil mikroplar ve sporlar pastörizasyon ısısına dayanıklıdır. Sütlerin pastörizasyonundan sonra da ısıya dayanıklı birçok mikroplar canlı kalırlar. Konserve gıdaların sterilizasyonu bu nedenle önem kazanmaktadır. *T. aquaticus*, *B. stearothermophilus*, bu tür mikroplara örnek verilebilir.

Mikroplar yüksek sıcaklıkta ölürler. Ancak, sıcaklık yardımı ile ölme üzerine, sıcaklıktan başka, birçok faktörlerin de etkisi bulunmaktadır. Bunlar da kısaca şöyledir:

1- Yüksek sıcaklık: Maksimal limiti aşan sıcaklık, mikropların karakterine göre kısa ve uzun bir süre içinde ölümlere neden olur. Psikrofilik mikropların çoğu 30-35 °C' de, mezofillerin ekserisi 65 °C' de 20-30 dakikada, termofiller ise 80-90 °C' de tahrip olurlar. Sporlar 100-110 °C' de ve bütün mikroorganizmalar da rutubetli sıcaklıkta 120 °C' de 15-20 dakika içinde ölürler (sterilizasyon).

2- Mikrop türü: Mikroorganizmaların vegetatif formları, kapsüllü ve sporlu olanlardan daha erken ölürler. *B. anthracis* 'in sporları 100-110 °C' de 10-15 dakika canlı kalabilir. Buna karşın doğa koşulları altında 40-50 sene yaşayabilir ve hastalık yapma kabiliyetini muhafaza edebilir. Tüberküloz mikroorganizmalarının etrafında bulunan balmumu tabakası, bunları çevresel koşullarının her türlü olumsuz etkisinden koruduğu gibi ısıya da dayanıklı hale getirir. Isıya direnç bakımından mikroplar arasında farklar bulunmaktadır.

3- Mikrop sayısı: Bir ortamdaki ve kültürdeki mikrop sayısı arttıkça, bunları öldürmek için geçen süre de, artar. Bu artış, mikrop sayısındaki her logaritmik azalış için, bir sıcaklık birimi

kadardır. Çünkü, belli zaman dilimleri içinde popülasyonda belli oranda logaritmik azalmalar olur. Örn. başlangıçta kültür içinde 24 milyon mikrop varsa, 100 °C' de ilk dakika sonunda  $24 \times 10^5$ , ikinci dakikada  $24 \times 10^5$ , üçüncü dakikada  $24 \times 10^3$ , dördüncü dakikada  $24 \times 10^2$ ,.... ve böylece mikroorganizma miktarı ile orantılı olarak süre de uzayacaktır. Ancak, bu rakamlar yaklaşık olup tam kesin değildir.

4- Ortamın bileşimi: İçinde yağ, protein, mukoid sıvılar, organik maddeler, vs. bulunan ortamlardaki mikroplar daha yavaş ve geç ölürler. Bazı durumlarda da, eğer süre ve sıcaklığın derecesi uygun değilse, ölmeyebilirler. Besiyerlerinin viskozitesi arttığında sıcaklık iletme kabiliyetinde azalma meydana gelir. Bu durumun, göz önünde tutulması gerekir.

5- Ortamın pH 'sı: Mikroorganizmalar, optimal pH derecelerinde ısıya karşı dayanıklı, maksimal ve minimal pH limitlerine doğru dirençlerinde azalmalar meydana gelir.

6- Mikropların üreme durumları: Sıvı kültürlerde üreme döneminde olan mikroplar, ısıya durma veya ölme periyotlarından daha duyarlıdır.

7- Rutubet: Rutubetli sıcaklık, kuru sıcaklıktan daha etkilidir. Otoklavda (rutubetli sıcaklık) 115 °C' de 15 dakikada ölen sporlar, Pasteur fırınında (kuru sıcaklıkta) 150 °C' de bir saatte ölürler.

8- Süre: Süre ne kadar uzun olursa, sıcaklığın mikroplar üzerinde olan etkisi de artar.

B) Soğukun etkisi: Mikroorganizmalar soğuğa sıcaktan, daha fazla dayanırlar. Minimal sıcaklığı geçince üremeleri duran mikroplar, bu limit çok aşılabilir bile ölmedikleri görülür. Soğukluk -80 °C veya -190 °C olunca canlılıklarını ve infeksiyöz kabiliyetlerini uzun süre (yıllarca) koruyabilmektedirler. Bu nedenle, mikroorganizmalar (bakteri, mantar, virus) ve çeşitli hücreler (doku hücreleri, sperma, vs.) sıfırın çok altında (-190 °C' de) muhafaza edilmektedirler. Ancak, bazı mikropların özel duyarlılığını da göz önünde tutmak gereklidir. Ayrıca, donarken ve çözülürken popülasyonda canlılık miktarında ve hastalık oluşturma yeteneğinde de azalmalar meydana gelir. Bakterilerin hücre duvarı, donma ve çözülme sırasında parçalanabilir. Eğer mikroorganizmalar çok kısa süre içinde dondurulur, kurutulur ve havası alınmış ampuller içinde saklanırsa uzun yıllar canlılıklarını ve aktivitesini koruyabilir (liyofilizasyon). Mikropların ve hücrelerin liyofilizasyonunda, steril yağsız süt, serum, gliserin, laktalbumin, sodyum glutamat, vs. gibi ara maddelerden yararlanır.

Çeşitli sıvılar ve serumlar aynı şekilde, ya çok soğuk derecelerde veya liyofilizasyon suretiyle uzun yıllar muhafaza edilmektedirler.

Mikroorganizmaların sıcaklık ile ilişkili fizyolojik karakterlerini saptamada bazı özel kriterler konulmuştur. Bunlardan biri, termal ölüm noktasıdır. Bu nokta, belli bir yoğunluk ve ortamda üretilen mikropların, 10 dakika içinde ölebildikleri en düşük sıcaklık derecesidir. Bu limit mikroplar arasında değişiklik gösterir. İyi bir kontrol sağlandığı takdirde, konservecilikte, süt ve gıda maddelerinin muhafazasında yararlar sağlayabilir. Diğer bir nokta da, termal ölüm süresidir. Bu süre, belli sıcaklık derecesinde veya sabit bir sıcaklık derecesinde bütün mikropların ölmesi için geçen zamanı kapsar. Bu süreye, ortamın viskozitesi, pH' sı, mikroorganizmaların tür ve yaşı, mikrop sayısı ve çevresel koşullar fazlasıyla etkiler. Aynı etkenler, termal ölüm noktasına da tesir ederler.

Aşağıdaki çizelgelerde, bazı mikropların minimal, optimal ve maksimal üreme sıcaklıkları ile termal ölüm noktaları gösterilmiştir.

Mikroorganizma	Minimum °C	Optimum °C	Maksimum °C
Psikrofiller	-5 5	15 30	19 35
Mezofiller	10 15	30 45	35 47
Termofiller	40 45	55 75	60 80
<i>E. coli</i>	8	37	47
<i>B. subtilis</i>	8	28 40	50 55
<i>C. tetani</i>	14	37	43
<i>N. gonorrhoeae</i>	30	37	40
<i>B. stearothermophilus</i>	33 37	50 65	70

## 02.02. Radyasyonun Etkisi

Radyasyon, boşlukta veya materyal bir ortamda enerjinin dalgalar halinde yayılması olayıdır. Pratikte mikrobiyoloji alanında radyasyonlardan başlıca iki amaçla yararlanır. 1- Sterilizasyon ve dezenfeksiyon, 2- Mutasyonlar oluşturmak için Radyasyonlar karakterlerine göre başlıca iki türdür

A) İyonizan olmayan radyasyonlar

- 1- Ultraviolet (mor ötesi) ışınları,
- 2- İnfrared (kızıl altı) ışınları,
- 3- Ultrasonik (ses ötesi) dalgalar.

B) İyonizan radyasyonlar

I). Elektromagnetik radyasyonlar

- 1- İks (X) ışınları,
- 2- Gama ışınları.

II).Partiküler radyasyonlar

- 1- Alfa ışınları,
- 2- Beta ışınları,
- 3- Katot ışınları

Mikrobiyolojide en çok kullanılan radyasyonlar ultraviolet ışınları, X ışınları, gama ışınları, katot ışınları ve ultrasonik vibrasyonlardır.

### 02.02.01. İyonizan Olmayan Radyasyonlar

Ultraviolet (UV-) ışınları: Bunların dalga uzunlukları, diğer ışıklardan daha büyüktür. UV-ışınlarının kuvantum enerjisi düşük olduğundan iyonizasyon oluşturamaz ve ancak moleküllerde ekzitasyonlar meydana getirirler. Ultraviolet ışınlarının dalga boyları 10 nm ile 380 nm (100 Å-3800 Å) arasında değişmektedir. Bu ışınların bakteriyel, mantar, virus, spor ve hücreler üzerine letal etkileri vardır. Pratikte UV-ışınları, cıva buharlı lambalardan elde edilir. Derinlere girememeleri nedeniyle, hastanelerde operasyon odalarının ve bazı özel yerlerin havasını ve burada bulunan eşyaların yüzeyini sterilize etmekte kullanılır. UV-ışınlarının mikroplar üzerine, letal etkilerinden başka, mutagenik olarak ta tesir eder. Proteinlerin, özellikle, nukleik asitlerin, bu ışınlarla karşı olan özel affiniteleri nedeniyle kolayca absorbe edilirler. Bunun sonucu olarak ta, DNA iplikçiklerinde yan yana bulunan timinler arasında bağların kurulması (timin dimerleri) olayı meydana gelir (dimerizasyon). Oluşan bu dimerizasyon, DNA'nın normal yapısını çarpıtır. Bu durum DNA replikasyonuna, transkripsiyona ve dolayısıyla da translasyona etkileyerek bakteride protein sentezin ve diğer mekanizmaları bozar ve ölümlere neden olur. UV-ışınlarının dozajı artarsa bu sefer timin dimerleri yanı sıra, sitozin dimerleri de oluşmaya başlar ve ölümler çoğalır.

Absorbe edilemeyen ışınların DNA üzerinde etkileri çok zayıf veya yoktur. Dalga uzunlukları 300 nm.'den aşağı olanlar daha fazla absorbe edilirler.

Cam, su ve organik maddeler, UV-ışınlarını absorbe ederek etkisini azaltırlar. Oksijensiz ortamlarda daha etkili olabilen UV-ışınları, gözün retinası üzerinde bozukluk yaptığından, UV-ışınları bulunan bir odaya özel gözlük takarak veya UV-ışığı söndürülerek girilir.

Absorbe edilen UV-ışınları ve görülebilen ışınların, kuvantum enerjileri fazla olmadığından maddelerin atomlarından elektronların çıkmasına neden olacak güçte değildirler. Bu nedenlerle iyonizasyon yapamayıp, ancak elektronlar arasındaki aktivasyonu artırarak yüksek enerji oluştururlar (ekzitasyon). Bu da fotokimyasal olaylara neden olur ve bazı bozukluklar meydana getirir. Atomlardan elektronların çıkabilmesi için radyasyon enerjisinin 10 elektrovolttan daha yüksek olması gereklidir. Bu yüksek enerji, atomları iyonize ederek bazı elektronların çıkmasına sebep olur (iyonizasyon). Bu tür enerjiye X ve gama ışınları sahiptirler.

Kuantum enerjinin (elektromagnetik dalgaları oluşturan en küçük enerji demetleri) derecesi, dalga uzunluğu ile ters orantılıdır. Buna karşılık bir biyolojik sistem tarafından absorbe edilen kuvanta miktarı, radyasyonun süresi ve yoğunluğu ile doğrusal orantılıdır. Bir atomdaki elektronların kuvantum absorpsiyonu, molekülün aktivasyonuna yol açar. Bu da, kimyasal reaksiyonlarda ekstra enerji olarak kullanılır veya kaybedilir (fluoresens, sıcaklık, vs).

Fotoreaktivasyon: Eğer bakteri hücreleri UV-ışınlanmasından sonra hemen, görülebilen ışınlar (300-400 nm. dalga boyu) tutulursa, UV-ışınlarının letal etkileri azalır. Bu olay, UV-ışınlanması sonucu oluşan primidin dimerlerinin görülebilen ışınlarca aktive edilen özel enzimler tarafından, hidrolize edilerek giderilmesi sonucu meydana gelir. Böylece, dimerler ortadan kaldırılarak bozukluk tamir edilir.

Işıқта yapılan bu tamir mekanizması yan ısıra bakterilerde, karanlıkta iş görebilen ve dimerizasyonu gideren diğer bir tamir sistemi daha bulunmaktadır (karanlıkta tamir). Bu mekanizmada 4 enzim (endonuklease, ekzonuklease, DNA polimerase, polinukleotid ligase) görev alır ve bozulan bölgeyi tamir ederler.

### **02.02.02. Güneş Işınları**

Güneş ışınları dünya için iyi bir radyasyon kaynağıdır. Güneş ışınlarını, görülebilen ışınlar, UV-ışınları, infrared ışınları ve radyo dalgalar oluşturur. Özellikle ısınmayı da infrared ışınları sağlar. Görülebilen ışınların, dünyadaki yaşam için önemi çok fazladır. Fotosentetik organizmalar ışık enerjisinden yararlanırlar. Güneş ışınlarının %60'ını infrared ışınları teşkil eder.

Dünya yüzeyine ulaşan UV-ışınlarından 290-300 nm dalga boyunun altında olanları çok azdır. UV-ışınlarının 287 nm' nin altında dalga boyuna sahip olanlar atmosferdeki oksijen tarafından absorbe edilir. Bu işlemi, dünyadan 35-55 km. yukarda bulunan ozon (O<sub>3</sub>) tabakası yapar. Ozon tabakası, daha uzun dalga boyundakileri de absorbe ederek tekrar oksijen oluşturur.

Güneş ışınları (UV-ışınları), mikroorganizmalar üzerine, hem mutasyonlar oluşturarak ve hem de sıcaklığı ile etkiler.

### 02.02.03. İnfrared Işınlr

Biyolojik materyallerde kimyasal değişikliğe neden olabilecek kuvantum enerjisine sahip olmadıklarından pratikte değerleri azdır. Dalga uzunlukları çok büyüktür.

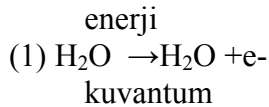
### 02.02.04. Ultrasonik Vibrasyonlar

Ses dalgalarının 20-1000 Kc. olanları bakteri hücrelerini parçalayabilecek niteliktedirler. Bu durumdan yararlanılarak, enzimatik çalışmalar ve bakterilerin iç yapı karakterlerini incelemek mümkün olabilmektedir. Ultrasonik dalgalarının frekansı arttıkça, parçalayıcı etkisi de artar. Sıvı içinden geçen ses dalgaları 10 mikrometre çapında boşluklar meydana getirir. Bunlar birbirleriyle birleşir ve sonra da kollapse olurlar. Bu kollaps sırasında oluşan yüksek basınçlı enerji bakterilerde hücre duvarını parçalayabilecek kudrettedir. Bunun yanı sıra sıvı içinde bazı fiziksel ve kimyasal değişmeler de meydana gelir. Bunlar da bakteriler üzerine olumsuz yönde etkileyerek parçalanmayı hızlandırır. Ultrasonik vibrasyonlar, hücre içindeki makromoleküllerin ve intramoleküler organizasyonların depolimerizasyonuna yol açar. Ultrasonik vibrasyonlara stafilkoklar dirençli olmasına karşın, diğer Gram pozitif ve negatif mikroorganizmalar daha duyarlıdır.

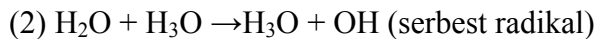
Hücreleri parçalayarak içindeki virusları dışarı çıkarmada ultrasonik vibrasyonlardan yararlanıldığı gibi suların sterilizasyonunda da aynı amaçla kullanılmaktadırlar.

### 02.02.05. İyonizan Radyasyonlar

İyonizan ışınlar, fiziksel özelliklerine göre iki kısma ayrılırlar. 1- Elektromagnetik olanlar ve 2- Partüküler olanlar. Bu ışınların dalga boyları çok kısadır ve derinlere girme kabiliyeti fazladır. Bu özelliklerinden yararlanarak pratikte sterilizasyon amacıyla kullanılırlar. Çok fazla enerjiye sahip olduklarından atomlardan elektronların çıkmasına neden olurlar (iyonizasyon) ve letal etkileri de çok fazladır. Bu etkileri, absorbe edilen enerji miktarı ile bağıntılıdır. İyonizan ışınların hücrelerde bulunan ve çok önemli görevlere sahip olan makro ve mikromoleküller üzerine olan olumsuz etkileri de çok fazladır. Biyolojik sistemlerde suyun fazla olması ve böyle ortamlardan iyonizan ışınların geçmesi suyun iyonizasyonuna da neden olur.



Bu reaksiyonda oluşan pozitif yüklü su iyonu, iyonize olmamış su molekülü ile reaksiyon vererek serbest hidroksil radikalleri oluşturur.



Birinci reaksiyonda açığa çıkan elektron, iyonize olmamış su ile reaksiyon vererek serbest hidroksil radikallerine yol açar. Hidroksil radikallerinin çok kuvvetli oksidan etkisi

olduğundan, DNA üzerinde zedelenmelere sebep olur. Hücrede, irradyasyon sırasında, oksijenin bulunması ışınların etkisini daha da arttırır. Serbest radikallerin oksijenle birleşmesi sonu bir seri otooksidatif reaksiyonlara ve ayrıca da peroksidase oluşumuna neden olur. Bunlar ışınların etkisini arttırırlar. Buna karşılık hücre içinde bulunan sülfidril grupları da, biyolojik sistemlerin koruyucu olarak, irradyasyonun zararlarını hafifletirler.

İyonizan ışınlardan pratikte, sterilizasyon amacı ile yararlanılır. Gram pozitif ve negatif mikroorganizmalar üzerine letal etkileri fazladır ve bu tesir logaritmik bir kural içinde meydana gelir (belli zaman aralıklarında belli veya sabit düzeyde mikroorganizmalar ölürler). Öldürme olayı, ışınların dalga uzunluğu ve total radyasyon dozu ile bağıntılıdır.

İyonizan ışınlarla genellikle soğuk sterilizasyon meydana gelir. Sıcaklık oluşumu ya çok az veya yoktur. Gıdaların sterilizasyonu esnasında, bu maddelere özel tat ve koku verebilir. Bu nedenle de çok tercih edilmemektedirler.

### **02.02.06. Elektromagnetik İyonizan Radyasyonlar**

X-ışınları: Bu elektromagnetik ışınlar elektrik jeneratörleri tarafından oluşturulur. Dalga uzunlukları  $10 \text{ \AA}$  ile  $10^{-4} \text{ \AA}$  arasında değişir ve yüksek enerjiye sahiptirler. Bu nedenle mikroorganizmalara ve yüksek organizmalara etkilidirler. Elde edilmesi güç ve pahalı olduğu gibi çıkış yerinden her tarafa yayılma özelliğine de sahiptirler. Derinlere girebilme özellikleri bunların letal etkilerini arttırır. Bu ışınlardan pratikte, mutasyonlar meydana getirmekte ve paketlenmiş gıdaları sterilize etmede yararlanmaktadır.

Gama ışınları: Bu da elektromagnetik bir ışınım olup doğal veya yapay radyoaktif elementlerden elde edilirler. Bu amaç için kobalt-60 fazla kullanılır. Yüksek enerjili olup dalga boyu, X-ışınlarından daha kısadır ve bu nedenle letal etkisi de daha fazladır. Her tarafa yayılma özelliği gösteren bu ışınlardan gıdaların sterilizasyonunda yararlanılır.

### **02.02.07. Partiküler Radyasyonlar**

1- Alfa ışınları: Radyoaktif elementlerden elde edilen çok hızlı ve yüksek enerjili bir helyum çekirdeğidir.

2- Beta ışınları: Aynı tarzda, radyoaktif elementlerden elde edilen hızlı ve yüksek enerjili negatif yüklü bir ışınımır.

3- Katot ışınları: Elektrik akseleratörleri tarafından oluşturulan ve elektron demetleri halinde ışınlardır. Yüksek voltajlı ve vakumlu tüplerde katottan çıkarak anoda doğru hızla hareket ederler. Bu ışınlardan pratikte, sterilizasyon amacı ile sınırlı olarak yararlanılır.

### **02.03. Yüzey Geriliminin Etkisi**

Besiyerlerinde bulunan gıda maddelerinin mikroorganizmalara girebilmesi, bakteri içinde sentezlenen enzimlerin ve oluşan metabolitlerin dışarı çıkabilmesi için, hücre duvarının yarı geçirgen özelliğinin önemi çok fazladır. Metabolizma olaylarının normal meydana gelebilmelerinde mikropların bulunduğu sıvı ile bakteri yüzeyi arasındaki moleküler gerilimin dengede bulunması gereklidir. Bu denge, bakteriye giriş-çıkışı büyük ölçüde kolaylaştırır. Bakteriye temas eden sıvı yüzeyindeki moleküllerin oluşturduğu gerilim çok fazla olursa, oluşan kuvvetli moleküler membran nedeniyle, sıvı ortamdaki bakteriye gıda maddelerinin girişi çok güç olur ve bakteri beslenemez. Aksine, bu moleküler gerilim zayıf olursa, sıvı ile



bakteri yüzeyi birbirine çok sıkı temas ederek sıvı içindeki maddelerin bakteri yüzeyinde toplanmasına sebep olur. Buna bağlı olarak bakteri içinden dışarı ve dışardan içeri gıdaların akışı güçleşir ve bakteri yine beslenemez. Yukarıda bildirilen nedenlerle, bakteri yüzeyi ile buna temas eden sıvı ortamın yüzeysel moleküler gerilimin dengede bulunması zorunludur.

Eğer bir bakteri, kendi türüne göre, yüzey gerilimi fazla olan bir sıvı içinde kültürü yapılırsa, üstte üreme gösterir ve tüpün geri kalan kısmında üreme zayıf olur (*B. subtilis* gibi). Eğer bu besiyerinin yüzey gerilimi düşürülürse, *B. subtilis* homojen bir tarzda üreme gösterir. *S. aureus* buyyonda genellikle homojen bir tarzda ürer. Eğer bu besiyerinin yüzey gerilimi artırılırsa (%0.05 sodium ricinoleate veya lipoid madde ilavesi ile), etken bu sefer üstte üremeye başlar. Yüzey gerilimini düşüren maddeler arasında sabunlar, deterjanlar, safra, fenol vs. ajanlar vardır. Bu nedenle böyle maddelerin ıslatma özellikleri bulunmaktadır.

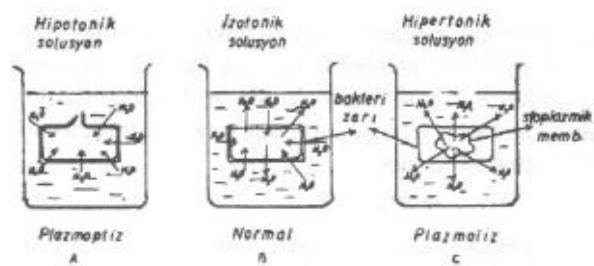
Yüzey gerilimi (interfascial gerilim) iki sıvı veya sıvı ile katı (sıvı besiyeri ile bakteri yüzeyi gibi) arasında olabileceği gibi sıvı ile hava arasında da olabilir.

#### 02.04. Osmotik Basıncın Etkisi

Bir ortamın osmotik basıncı, içinde eriyen maddelerin konsantrasyonu ile ilişkilidir. Mikroorganizmalar, içinde üredikleri sıvı besiyerinin osmotik basıncı ile kendi hücre içindeki osmotik basınç arasında bir denge kurmuşlardır. Bu denge yarı geçirici olan hücre membranları yardımı ile regüle edilir ve devam ettirilir. Mikropların en iyi üreyebildikleri ortamın osmotik basıncı, bakteri içindeki ile aynı veya çok az farklıdır (isotonik, isoosmotik). Böyle ortamlarda bakteri zarlarından giriş ve çıkış kolaylıkla olur ve bakteri gelişmesine ve üremesine devam eder. Eğer ortamın osmotik basıncı azalmış ise (hipotonik, hipoosmatik), böyle durumlarda dışardan bakteri içine fazla sıvı girerek bakteriyi şişirir ve olay devam ederse bakteriyi patlatır (plasmoptiz). Hipertonik, hiperosmotik ortamlarda ise, bakterinin içinden dışarı fazla sıvının çıkması sitoplasmik membranın hücre duvarından ayrılarak büzülmesine ve ortada toplanmasına neden olur (plasmoliz).

Osmosis, yarı geçirgen bir membranla ayrılan konsantrasyonları farklı olan iki sıvının bu zardan birbirine doğru geçişini ifade eder. Bu geçiş olayı her iki tarafın osmotik basıncı veya yoğunluğu birbirine eşit oluncaya kadar devam eder.

Eğer bakteri, %20 tuz konsantrasyonu içinde suspansiyon yapılırsa, hipertonik bir ortam oluşacağından, plasmoliz olayı meydana gelir. Bunun aksine, bazı bakteriler, %1 oranındaki tuz konsantrasyonu içinde suspansiyon yapılırlarsa, su akışı bu sefer dışardan içeri doğru olur ve bakteri şişerek parçalanır (plasmoptiz).



Bakteri içindeki osmotik basınç, bakteri türlerine göre değişmek üzere, 5-20 atmosfer arasında bulunmaktadır. Bu basınca mikroplar hücre duvarı ile karşı koymaktadır. Bakteri içindeki bu fazla osmotik basınç, içte bulunan organik maddeler (protein, amino asit, karbonhidrat, vs.) ve inorganik tuzlar tarafından oluşturulur.

Gram pozitif mikroorganizmaların iç osmotik basıncı genellikle 15-20 atmosfer ve Gram negatiflerin ki ise bundan daha azdır (5-10). Mikroorganizmalar normal sınırlar içindeki osmotik basınç değişmelerine kolayca adapte olabilirler ve bu değişmeleri yarı geçirgen membranları ile kolayca regule edebilirler (osmofilik mikroplar). Bu sınırların dışına çıktığında bakterilerde gelişme de ve üremede noksanlıklar, plasmoliz ve plasmoptiz olayları görülebilir. Ancak, denizlerde, tuzlu göl ve sularda, salamuralarda, reçellerde, vs. yerlerde bulunan yüksek orandaki tuz veya şeker konsantrasyonlarına alışarak üreyebilen ve bunların bozulmalarına neden olan mikroorganizmalar da vardır (halofilik ve sakkarofilik). Pratikte, et ve balık muhafazaları için %10-20 tuz ve reçellerde de %50-70 oranında şeker kullanılarak osmotik basınç yükseltilir ve mikropların üremesine mani olunur. Ancak böyle hipertonic ortamlarda da, küf, maya, alg ve bazı bakteriler az da olsa üreyebilirler.

## 02.05. Hidrostatik Basıncın Etkisi

Mikroorganizmalar hücre duvarının sert ve dayanıklı olması nedeniyle mekanik ve hidrostatik basınçlara karşı oldukça fazla direnç gösterirler. Çelik bir silindire konan ve suspansiyon halindeki mikroplar, burada oluşturulan fazla basınca, kendilerinde görülebilir önemli zararlı etkiler olmadan dayanabilirler. Okyanusların, denizlerin ve göllerin diplerinde bulunan barofilik mikroplar (*B. submarineus*, *B. thalassokiotos*) 10000 libre/inc<sup>2</sup> (psu)'lik bir basınca kolayca dayanırlar ve bu basınç altında yaşamlarını sürdürürler. Ancak yüksek basınç altında mikroplarda, az da olsa, bazı değişmeler meydana gelebilmektedir. Örn. flagellalı mikroplar hareketlerini ve bazıları da bölünme kabiliyetini kaybedebilirler. Hidrostatik basınç 15000 psu olunca proteinlerde denatürasyon ve enzimlerde inaktivasyon görülebilir. *Serratia marcescens* ve *S. lactis* 85000-100000 psu basınç altında 10 dakika içinde ölürler.

## 02.06. Rutubetin ve Kurumanın Etkisi

Su, mikropların üremesinde, gıda maddelerinin içeri girişinde ve içeride biriken metabolitlerin ve diğer maddelerin dışarı çıkışında ve metabolik olaylarda çok önemli göreve sahiptir. Üreme ortamlarında bulunan gıda maddelerinin bakteriler tarafından alınabilmesi ancak bunların suda eriyebilir olmaları ile mümkündür ve su aracılığı ile de bakteriye girerler. Aynı şekilde, bakteri içindeki enzim veya metabolitlerin dışarı çıkabilmesinde de su önemli rol oynar. İçinde su oranı yüksek katı besiyerlerinde mikropların gelişmesi daha kolay olur ve oluşan koloniler daha iridirler. Mikropları üretmek için kullanılan etüvlerin havasının relatif rutubetinin de yukarıda bildirilen nedenlerle uygun olması gereklidir. Rutubetli etüvlerde, böylece, besiyerlerinin suyunun uçması ve besiyerlerinin kuruması önlenir ve mikroplar için gerekli nem sağlanmış olur. Sıvı besiyerlerinden suyun buharlaşması, bu besiyerinde bulunan kimyasal maddelerin konsantrasyonunu artırır. Bu durum üreme üzerine olumsuz yönde etkiler. Katı besiyerlerinde üreyen mikropların beslenebilmesi için de agardan gıda maddelerinin difüzyonla bakterilere ulaşması lâzımdır. Bu görevi de yine su yapar.

Katı besiyerlerindeki suyun ve bunların bulunduğu etüvlerin havasındaki rutubetin çok önemli olduğu bunun azlığı durumlarında bakteri üremesinin yavaşladığı ve durduğu görülür. Bu rutubet, katı besiyerlerinde beslenme üzerine etkili olduğu gibi mikroorganizmalardan suyun çıkması bakımından da önemlidir. Mikroorganizmalar içinde %70-90 kadar su bulunmaktadır. Bunun azalması birçok biyokimyasal olayların durmasına ve mikropların ölümüne sebep olur. Ancak, mikropların kurumaya karşı dirençleri değişiktir. Bazılarının (gonokok, meningokok, leptospira, pastörella. vs.) çok çabuk ölmesine karşın, bir kısım mikroorganizmalar da (stafilokoklar, *E. coli*, mikobakteriler, sporlar, mantarlar, vs.) daha

dayanıklılırlar. Sporların içinde %5-20 kadar suyun bulunması ve etraflarında kalın membranların oluşu bunları çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı çok dirençli hale getirmiştir.

Liyofilize edilen mikroorganizmalar uzun süre canlılıklarını korurlar. Liyofilizasyon sırasında uygulanan dondurma, kurutma ve havasını alma işlemleri sırasında bazı mikroplar ölebilirlerse de çoğu, uzun zaman canlı kalır ve infektivitesini korurlar.

Hasta bir vücuttan çeşitli yollarla dışarı çıkan mikroplar, eğer direk olarak güneş ışınlarına maruz kalmazlarsa, kuruyarak uzun bir süre canlı kalabilirler ve tozlarla havaya karışarak infeksiyon oluşturabilirler. Mikropların etraflarında vücut sıvılarından (mukoid, organik madde, serum, kan, vs.) bir muhafaza varsa veya dışardan diğer organik veya inorganik maddelerle örtülürse yine uzun bir zaman canlı kalabilirler. Gölge, mikroorganizmaların yaşamını uzatıcı bir faktördür.

### **02.07. Elektriğin Etkisi**

Sıvı ortamlarda suspansiyon halinde bulunan mikroorganizmalardan direk veya alternatif elektrik cereyanı geçirilirse, mikroplar zarar görebilirler. Cereyanın şiddetli ve geçme süresi fazla olursa daha zararlı ve öldürücü olurlar. Elektrik nedeniyle sıvı ortamda bazı kimyasal değişimler de meydana gelebilir. Oluşan sıcaklık ve elektroliz olayı sonu meydana gelen ara maddeler (klor, ozon, vs.) mikroplar üzerine zararlı etkide bulunurlar.

Elektroforezis: Protein moleküllerinin veya mikroorganizmaların sıvı ortam içinde suspansiyonları yapılırsa, yüzeyleri pozitif (+) veya negatif (-) elektrik yüklenirler. Böyle bir ortamdan uygun bir süre ve şiddette elektrik geçirilirse, pozitif yüklü olanlar katoda, negatif elektrik yüklenmiş olanlar da anoda doğru hareket ederler (elektroforezis). Elektroforezisin birçok yöntemleri vardır. Bunların arasında kâğıt elektroforezis özellikle, pratikte, anormal serum proteinlerinin saptanmasında, serum ve sıvılardaki gama globülinlerin düzeylerini ölçülmesinde kullanılır. Jel elektroforezis yöntemi de daha ziyade proteinlerin nükleik asitlerin sütrüktürel durumlarını ortaya koymada veya analitik amaçlarla kullanılmaktadırlar.

### **03. Kimyasal Faktörler**

Doğada serbest olarak yaşayan veya laboratuvarlarda üretilen mikroorganizmalar üzerine etkileyen birçok kimyasal faktör bulunmaktadır. Bunların bazıları optimal koşullarda olduğunda üremeyi artırıcı etkilemesine karşın bu sınırların dışında ise üremeyi kısıtlayıcı, durdurucu ve hatta öldürücü etkide bulunurlar. Doğaldır ki, bu tarzdaki etkinlik dereceleri, kimyasal maddelerin yoğunluğu, yapısı ve etkileme süresi ile direkt ilişkili olduğu kadar mikroorganizmalara da bağlıdır.

Mikropların üremelerinde etkili olan kimyasal faktörler arasında oksijen (O<sub>2</sub>), karbon dioksit (CO<sub>2</sub>), hidrojen iyon konsantrasyonu (pH), redoks potansiyel, ortama katılan bufferler yanı sıra hastalık oluşturan mikroorganizmaların üremelerini önlemek (stasis) veya öldürmek (sidal) amacı ile kullanılan antibiyotik, kemoterapötik maddeler ile çeşitli dezenfektanlar da bulunmaktadır. Bu son maddeler, özellikle, mikroorganizmaları kontrol altına almada kullanılırlar.

### 03.01. Oksijenin Etkisi

Mikroorganizmaların, üremeleri için oksijene olan ihtiyaçları, çok değişiklik göstermektedir. Bu gereksinmeye göre mikroplar 5 temel bölüme ayrılarak incelenebilirler. Yandaki şekilde sırasıyla aerobik, anaerobik, fakültatif, mikroaerofil, aerotolerant üreme şekilleri görülmektedir.



1- Aerobik mikroorganizmalar: Üremeleri ve yaşamaları için havadaki oksijene ihtiyaç gösteren mikroplar, doğada diğerlerinden daha fazla bulunurlar. Bunlar havasız koşullar altında gelişemezler. Çünkü oksijensiz ortamlarda enerji elde edebilecek mekanizmaya sahip değildirler. Dik agar besiyerlerinde üretildikleri zaman genellikle üst kısımda koloni oluştururlar. Tam aerobik mikroorganizmalar, havadaki moleküler oksijeni elektron alıcısı olarak kullanırlar. Bu tür mikropların enzim sistemleri, hidrojeni ( $H^+$ ), serbest oksijene ( $O_2$ ) transfer ederek hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluştururlar. Bu madde toksik olduğundan katalase enzimi tarafından hemen  $H_2O$  ve  $O_2$  'ye ayrıştırılır ( $H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$ ). Bazı mikroplar da  $H_2O_2$  'yi hidrojen (H) alıcısı olarak ta kullanılabirler ( $H_2O_2 + 2 (H) \rightarrow 2H_2O$ ).

Aerobik mikroorganizmaların üremeleri esnasında kültürlerin aerasyonu üreme üzerine olumlu yönde etki yapar. Aerobik mikroorganizmalar arasında, *M. tuberculosis*, *B.anthraxis*, *B. subtilis*, *sarcina*, vs. sayılabilir.

2- Fakültatif mikroorganizmalar: Bu gruba giren mikroplar hem aerobik ve hem de anaerobik koşullarda üreyebilme mekanizmasına (enzimatik sisteme) sahiptirler. Bunlar, oksijen içeren koşullarda aynı aerobik mikroplar gibi üremelerine devam ederler. Anaerobik şartlarda da redükte olabilen maddeleri (sülfür, karbon, sodyum nitrat, vs.) hidrojen alıcısı olarak kullanılabirler. Ancak, bu mikroorganizmalar daha fazla enerji sağlayan aerobik koşullarda daha iyi gelişirler. Anaerobik durumlarda, fakültatif mikroplar az bir fermentatif metabolizma gösterirler. Diğer bir deyimle, substratları tam olarak okside edemezler. Bu tür mikroplar (enterobakteriler, stafilokoklar, vs.) dik agarın her tarafında üreme yeteneğine sahiptirler.

3- Anaerobik mikroorganizmalar: Anaerobik mikroplar oksijenin bulunmadığı ortamlarda gelişebilirler. Oksijen bunlar için zehirleyici tesir yapar. Bunlarda bulunan enzimler oksijen tarafından bloke edildiği gibi, enzim sistemleri, hidrojeni ( $H^+$ ), oksijene transfer edemez ve başka oksijen alıcısı (nitrat, sulfat, karbonat, vs) kullanırlar. Bu nedenle, hücre içinde  $H_2O_2$  oluşmaz. Bu maddeyi ayrıştıramadıklarından, kendileri için toksik etki yapar. Bu tür mikroplar dik agar besiyerinin dip tarafında ürerler. Anaerobik mikroplar arasında, klostridiumlar, aktinomyces, *Sphaerophorus necrophorus*, v.s. sayılabilir.

4- Mikroaerofilik mikroorganizmalar: Bu mikroplar havada bulunan orandaki kadar oksijen içeren ortamlarda gelişemeyip, oksijen oranı %1-2 kadar düşürülmüş veya havasına %5-10  $CO_2$  katılmış yerlerde üreme olanağına sahiptirler. Bunlar anaerobik olmayıp böyle koşullarda da gelişemezler. Mikroaerofilik mikroorganizmalardan *B. abortus*, *C. fetus*, bazı mikoplazma türleri vs. sayılabilir. Bu tür mikroplar katı besiyerlerinin yüzeyinden 1-1.5 cm kadar aşağıda ürerler.

5- Aerotolerant mikroorganizmalar: Bu mikroorganizmalar daha fazla yüzeyde olmak üzere, hem aerobik ve hem de anaerobik ortamlarda üreme yeteneğine sahiptirler.

### 03.02. Redoks Potansiyelin Etkisi (Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyeli)

Oksidasyon-redüksiyon (O-R) elektriksel bir olaydır ve elektron transferi üzerine dayanır. Oksidasyon (elektron kaybı) ve redüksiyon (elektron kazanma) fenomenleri genellikle birlikte cereyan ederler.

Bir madde okside olurken diğeri redükte olur. Elektron alıcısı okside eden, elektron vericisi de redükte eden ajandır. Elektronun bir maddeden diğerine geçişi iki madde (reaktant) arasında potansiyel farkını yaratır. Bu farkın şiddeti, kazanılan ve kaybedilen elektronlara bağlıdır. Bu da, maddenin oksidan veya redükten oluşuyla ilgilidir. Eğer, madde çok fazla oksidan ise elektriksel potansiyeli (veya O-R potansiyeli) o oranda büyük olur ve pozitif değer taşır. Eğer redükten madde ise, bu değer düşüktür ve negatiftir. Okside olan ile redükte olan maddelerin konsantrasyonu birbirine eşitse, O-R potansiyeli sıfır olur. Anaerobikler düşük bir O-R potansiyeline gereksinime duyarlar (0.2 volt). Aerobiklerde ise durum + 0.2-0.4 volt'dur.

O-R potansiyeli Eh sembolü ile gösterilir ve milivolt (mV) olarak ölçülür. Bu potansiyelin ölçülmesi, ekilen mikropların üreyip - üremediklerini de ifade etmesi bakımından önem taşır. Kuvvetli oksidan maddeler pozitif potansiyel (+ 200 mV) ve kuvvetli redüktenler da negatif potansiyel (-200 mV) meydana getirirler. Hidrojenin bir atmosfer altındaki potansiyeli -400 mV 'dur. Kültürlerin aerasyonu, pozitif potansiyel yaratır. Mikroplar üremeye başlayınca potansiyel düşmeye başlar.

O-R potansiyeli, elektrometrik veya kolorimetrik yollarla ölçülebilir.

### 03.03. Hidrojen İyon Konsantrasyonunun Etkisi (pH, Potansiyel Hidrojen)

Mikroorganizmaların üremeleri için, besiyerinin pH 'sının optimal sınırlar içinde bulunması gereklidir. Minimal ve maksimal pH limitlerine yanaştıkça üreme azalır ve durur. Bakterilerin optimal pH limitleri oldukça değişiktir. Asit ortamı seven mikroorganizmalar (maya, küf, laktobasil, asetobakter, vs) yanı sıra, alkali besiyerlerinde üreyenler de (mikoplasma, toprak bakterileri, *V. cholera*, vs.) vardır. İnsan ve hayvanlarda hastalık oluşturanlar genellikle, konakçının sıvı ve dokularının pH derecesinde (pH. 7.0-7.4) ürerler. Patogenik mikroorganizmaların besi yerlerinde üreme pH limitleri, apatogenlerden daha dardır.

Ortamın pH 'sının değişmesinde besiyerine katılan ve fermente olabilir karbonhidratların ayrışması sonu oluşan organik asitlerin, nitrojenli veya proteinli maddelerin dekompoze olması neticesinde meydana gelen amonyak veya alkalin maddelerinin önemi fazladır. Ayrıca, hücrede oluşan ve dışarı çıkan diğer metabolizma artıkları da pH 'nın değişmesine büyük ölçüde etkilerler. Bazı mikroplar da reaksiyonu dönüştürebilirler. *E. aerogenes* glukozu ayrıştırarak asit yapar ve ortamın pH 'sı düşer. Glukoz sarf edildikten sonra, bu sefer teşekkül eden, asit ürünler mikrop tarafından ayrıştırılır. Bu durumda besiyerinin pH 'sı normaline doğru çıkış gösterir.

Üremeyi olumsuz yönde etkileyen pH değişmesini önlemek için, besiyerine buffer'ler katılır. Bu amaçla, genellikle, ayrı ayrı veya birlikte  $K_2HPO_4$  veya  $KH_2PO_4$  kullanılır. Bunlar

meydana getiren hidrojen (H) ve hidroksil (OH) iyonlarının serbest kalmasının önüne geçer ve onlarla birleşikler oluşturur. Bu nedenle de, ortamın pH 'sı hemen asit veya alkali olmaz bir süre optimal limitler arasında kalır.

Bir besiyeri hazırlanırken pH'sı da mikroorganizmanın fizyolojik karakterine uygun olarak (optimal pH) ve genellikle %10-20 NaOH 'la ayarlanır. Otoklavdan sonra 1-2 diziyem düşeceği hesap edilerek pH iyice saptanır. Bir sıvı ortamın pH 'sını ölçmede ya elektrikle çalışan pH metreler veya daha az duyarlı olan kolorimetrik yöntemler kullanılır.

Bir ortamın pH'sı, içinde bulunan hidrojen iyonların konsantrasyonu ile ölçülür.

Saf suyun litresinde, + 22 °C' de  $10^{-7}$  gram hidrojen iyonu (H<sup>+</sup>) ile yine aynı miktarda ( $10^{-7}$  gram hidroksil iyonu (OH<sup>-</sup>) bulunur. Her iki iyon aynı konsantrasyonda bulunması nedeniyle saf suyun reaksiyonu nötrdür ve pH 'sı 7.0 olarak kabul edilir.

Bir sıvının pH 'sı 1 ile 14 arasında değişir. Eğer pH = 1-6 arası ise asit, pH = 7.0 nötr ve pH = 8 ile 14 arası ise alkalidir. Asitlik 1'den 6 aya doğru azalır ve alkalilik ise 8'den 14'e doğru gittikçe artar. Diğer bir ifade ile bir sıvının pH' sı 7'den küçükse asit, büyükse alkalidir. Her pH birimi azaldıkça, hidrojen iyon konsantrasyon artar, buna karşılık, hidroksil iyon konsantrasyonu azalır.

Bir sıvıdaki hidrojen (H<sup>+</sup>) ve hidroksil (OH<sup>-</sup>) iyon konsantrasyon çarpımları sabittir. (H<sup>+</sup>) x (OH<sup>-</sup>) = K =  $10^{-7} \times 10^{-7} = 10^{-14}$ ). Bir solusyonun pH 'sı sıfır ise, hidrojen iyon konsantrasyonu  $10^0$  veya 1 normaldir. Bu solusyon çok asittir. Kuvvetli asitler suda fazla dissosiyeye olurlar (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, vs). Buna karşılık asetik asit, sitrik asit, vs. zayıf asitlerdir ve suda az dissosiyeye olurlar.

Reaksiyon	Normalite	H iyonu g/litre	H iyonu konsantrasyonu logaritması	pH
Asit	N/1	1,0	-0	0,0
"	N/10	0,1	-1	1,0
"	N/100	0,01	-2	2,0
"	N/1000	0,001	-3	3,0
"	N/10.000	0,0001	-4	4,0
"	N/100.000	0,00001	-5	5,0
"	N/1.000.000	0,000001	-6	6,0
Nötr	Saf su	0,0000001	-7	7,0
Alkali	N/1.000.000	0,00000001	-8	8,0
"	N/100.000	0,000000001	-9	9,0
"	N/10.000	0,0000000001	-10	10,0
"	N/1.000	0,00000000001	-11	11,0
"	N/100	0,000000000001	-12	12,0
"	N/10	0,0000000000001	-13	13,0
"	N/1	0,00000000000001	-14	14,0

## 04. Biyolojik Faktörler

Canlıların vücudunda özellikle, sindirim, solunum, urogenital sistemleri ile derilerinde değişik cinslere ait sayısız mikroorganizma (yerleşik devamlı mikroflora) bulunmaktadır. Bunlar birbirleri ile ekolojik bir denge içinde, birbirlerinin üremelerini sınırlayarak yaşamaktadırlar. Sentezledikleri veya salgıladıkları substanlar karşılıklı etkileyerek birbirlerinin üremelerine ve hatta ölmelerine de yol açarlar. Aynı zamanda, bu yerleşik flora bazı patojenik mikroorganizmaların kolonizasyonuna da mani olur. Eğer bu metabolitleri sentezleyen mikroorganizmalardan biri veya ikisi ortadan kaldırılsa, diğerinin fazla üremelerine ve bazı durumlarda hastalık yapmalarına da neden olur. Özellikle antibiyotiklere duyarlı olmayan mikroorganizmalar *C. albicans* veya *C. difficile* infeksiyonlar oluşturabilirler.

Sindirim sistemi florasında bulunan, *E. coli* 'nin sentezlediği colicin (bakteriyosinler), bu maddeyi sentezlemeyen *E. coli* 'ler üzerine öldürücü etkide bulunur. Eğer bakteriyosin sentezleyen *E. coli* 'ler antibiyotik tedavileri sonunda çok azalırlarsa, diğer *E. coli* 'ler çoğalma fırsatı bulurlar.

Böylece, sindirim, solunum, urogenital ve deride bulunan mikroflora birbirleri ile çok hassas bir denge içinde bulunurlar ve sentezledikleri antagonist etkiye sahip metabolitlerle birbirlerinin üremelerini kontrol altında tutarlar.

Vücudun çeşitli sistemlerinde (sindirim, solunum, urogenital) ve diğer bölgelerin de (oral ve deri de) bulunan yerleşik mikroflora aynı zamanda karşılıklı bir ortak yaşam içinde de bulunurlar.

## 05. Mekanik Faktörler

### 05.01. Çalkalamanın Etkisi

Bu faktörler laboratuvarlarda mikroorganizmaların, özellikle, hareketsiz olanlarının veya zayıf üreme gösterenlerin üremelerini ajite etmek ve bulunduğu ortamlardan daha elverişli yerlere ulaşmasını sağlamak amacı ile uygulanmaktadır. Laboratuvarlarda kültürlerin çalkalanması genellikle çok hafif olmakta (dakikada 10-20 devir) ve üreme üzerine olumlu etkide bulunmaktadır.

Eğer çalkalama çok hızlı veya sert olursa mikroorganizmalarda ölümler meydana gelebilir.

### 05.02. Filtrasyon

Sıvı kültürlerde, sıvı besiyerinde, patolojik sıvılarda, serumlardaki, bakterileri ve partikülleri gidermede filtrelerden fazla yararlanır. Bu amaçla, bakterileri tutan ve delik çapları belli olan özel filtreler kullanılır. Bakteri geçirmeyen filtrelerin delik çapı 1 mikrometreyi ( $\mu\text{m}$ ) aşmamalıdır.

Bakteri alıkoyan filtreler yapısını oluşturan maddelere göre başlıca 5 kısma ayrılırlar.

1- Seitz filtreleri: Bu tür filtreler asbestden yapılmış diskler halindedirler. Delik çaplarına göre birçok türleri vardır. Bakterileri tutan EK (entkeimung) ve sıvıları berraklaştıran (K) gibi

fitrelerden mikrobiyoloji laboratuvarında, gereğine göre, önce (K) sonra da (EK) tipleri kullanılabilir. Seitz filtreleri komple olarak etrafı gümüşle kaplı veya paslanmaz çelikten yapılmış özel metal parçadan ve bir de metal elekten oluşur. Otoklavda sterilize edildikten sonra kullanılır. Asbest filtre de bu metal parçalardaki elek üzerine monte edilir.

Seitz filtrelerin sıvıları absorbe özelliği yanı sıra bazı toksik maddeleri de sıvıya verme durumları da vardır. Bu nedenle, filtrasyondan önce, filtreden steril distile su geçirilerek yıkanır ve olumsuz etkileri giderilir. Sonra, bu süzüntü çekilerek alınır ve sonra süzülme istenen sıvı süzülür. Kullanıldıktan sonra asbest diskler atılır. Seitz filtrelerinin çok eski bir tarihi olmasına karşın bu günde hala kullanan yerler vardır.

2- Berkefeld filtreleri: Bu tür filtreler fosil diatome toprağından yapılmıştır. Sıvıları emme kabiliyeti fazladır. Delik çapları çok değişik olarak imal edilir. Başlıca 3 tür porositeye sahiptir, kaba (V), normal (N) ve ince (W). Bu nedenle, en çok (W) tipi kullanılır ve bu mikropları geçirmez.

Bu tür filtreler kullanmadan önce sterilize edilirler. Kullanıldıktan sonra çok ince fırça ile temizlenir ve suda kaynatılırlar. Sonra, dıştan içeri su geçirmek suretiyle temizlenirler. Filtreler, kurutulur ve tekrar sterilize edilerek kullanılırlar.

Eğer organik madde ile tıkanıklık, meydana gelmişse filtre fırında yakılarak bu tıkanıklık giderilir. Tarihsel değeri vardır. Bugün kullanılmamaktadır.

3- Chamberland filtreleri: Bu filtre türü sırsız porselenden yapılmıştır ve çeşitli porositeye sahiptir. Bu özelliğine göre L<sub>1a</sub>, L<sub>2</sub> ve L<sub>3</sub> tipleri, Berkefeld filtrelerinin (V) (N) ve (W) bujilerinin eşdeğerindedir. Kullanıldıktan sonra temizlenir, kurutulur ve otoklavda sterilize edilir. Tarihsel değeri vardır.

4- Cam tozu filtreleri: Cam tozlarının bir araya getirilip birleştirilmesinden oluşan cam filtreler de porositelerine göre E (çok kaba), C (kaba), M (orta) F (ince), UF (çok ince) olarak yapılmıştır. Laboratuvarlarda çeşitli amaçlar için kullanılır. Ancak, özel bir filtrasyon aparatına monte edilerek otoklavda sterilize edilirler. Kullanıldıktan sonra akan su ile ters yönde yıkanır. Lüzum halinde, KNO<sub>3</sub> ihtiva eden sıcak H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solusyonu, filtreyi temizlemek için kullanılır. Sülfirik asit + bikromat karışımı kullanılmaz. Bugün çok nadiren kullanılmaktadır.

5- Sellüloz membran filtreler: Başlıca iki tür sellüloz membran filtre vardır. Biri eski tip olan sellüloz nitrat (gradokol membran) diğeri de yeni veya modern tip olan sellüloz asetat filtreleridir. Gradokol membranlar, çeşitli porositelerde (3 nm-10 nm) yapılabilir. Genellikle virusların büyüklüğünü ölçmede kullanılırlar. Milipor filtreler de aynı şekilde delik çapları değişik büyüklükte (8µm-0.01 µ) hazırlanmaktadır. Sellüloz asetat filtreler de iki tabaka vardır. Basal tabakada 3-5 µm ve üst tabakada 0.1-1.0 µm çapında porosite bulunur. Bu nedenle bakteriler üst tabakada tutulurlar.

Otoklava (121 °C.) 35-45 dakika dayanabilirler. Filtre disklerinin çapları 1.7-14 cm kadar olabilir. Özel metal veya cam tutucularda muhafaza edilirler.

Sellüloz filtrelerin, absorpsiyon kabiliyetinin daha az olması nedeniyle, Seitz filtrelerine tercih edilirler. Ayrıca daha hızlı süzme kapasitesi de vardır. Bakteri üst yüzeyde tutulduğu için de, bir agarın üzerine yatırılarak ekilebilirler.



Filtrasyonda, filtrelerin özelliğine göre, negatif veya pozitif basınç kullanılır.

### **05.03. Santrifugasyon**

Normal laboratuvar santrifüjleri ile bir sıvı içindeki mikropları gidermek pratik olarak mümkün değildir. Yüksek devirli santrifüjlerle hem bakteriler ve hem de viruslar çökebilirler. Ancak, bu çökme işlemi viruslar ve bakteriler için %100 kabul edilemez. Özellikle, sıvı içinde fazlaca virus kalabilir. Bu sebeple santrifüj yardımıyla bütün mikroorganizmalar giderilemezler veya sıvı steril hale getirilemez.

### **05.04. Ezmek**

Santrifüj yardımıyla çöktürülen mikroplar bir havana veya ezme aletine konur burada ezilerek parçalanabilir. Bu yöntemle de bütün mikroplar ölmezler.

### **05.05. Basınç Uygulamak**

Devamlı ve yüksek basınç altında bazı mikroplar ölebilirler. Ancak hepsi ölmez.

### **05.06. Çalkalamak**

Mikropların sertçe ve devamlı çalkalanması bazılarının ölümüne neden olabilir. Fakat büyük bir kısmı canlı kalabilir.

### **05.07. Vibrasyon**

Suspansiyon halindeki mikroplar ultrasonik vibrasyonlara maruz bırakılırsa ölebilirler. Bu, tam anlamıyla sterilizasyon sağlamaz.