

**MİKROBİYAL HAVA TOPLAYICI VE OKUYUCU SİSTEMİ  
TASARIMI VE PROTOTİP ÜRETİMİ**

**DESIGN AND CONSTRUCTION OF MICROBIAL AIR  
COLLECTOR AND DETECTION**

**DUYGU ERYILMAZ**

**PROF. DR. ERHAN BİŞKİN**  
**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin Biyomühendislik Anabilim Dalı  
için Öngördüğü DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2015

**DUYGU ERYILMAZ**'ın hazırladığı “**Mikrobiyal Hava Toplayıcı Ve Okuyucu Sistemi Tasarımı Ve Prototip Üretimi**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tülin KUTSAL

Başkan

.....

Prof. Dr. Erhan BİŞKİN

Danışman

.....

Prof. Dr. A. Kevser ÖZDEN (Pişkin)

Üye

.....

Prof. Dr. Hülya Yavuz ERSAN

Üye

.....

Doç.Dr. Abbas TANER

Üye

.....

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bir üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

02.04.2015

DUYGU ERYILMAZ

## ÖZET

### MİKROBİYAL HAVA TOPLAYICI VE OKUYUCU SİSTEMİ TASARIMI VE PROTOTİP ÜRETİMİ

**Duygu ERYILMAZ**

**Doktora, Biyomühendislik Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Erhan BİŞKİN**

**Nisan 2015, 117 sayfa**

Dünyada ve ülkemizde önemli bir sağlık sorunu olan hastane enfeksiyonları, hastaneye yatıştan 48-72 saat sonra veya taburcu olduktan sonra 10 gün içinde gelişen enfeksiyonlardır. Hastanelerde hava temizliğinin veya kirliliğinin saptanması, gerekli önlemlerin alınarak enfeksiyonların önlenmesi açısından çok önemlidir.

Günümüzde hastanelerde hava temizliğinin veya kirliliğinin saptanmasında partikül ölçümü ve pasif hava örnekleme yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak partikül ölçüm yöntemi sadece partiküllerin büyüklüklerine göre sayım yapmakta, mikroorganizmanın türü hakkında bilgi vermemektedir. Pasif hava örnekleme (çöktürme-sedimentasyon) yönteminde katı besiyeri içeren petri kapları örnekleme yapılacak ortamda belirli bir süre açık bırakılması şeklinde yapılmaktadır. Pasif hava örnekleme yöntemi ise kantitatif değildir. Bu sebeplerden dolayı hava örneklemesinin aktif hava örnekleme cihazlarıyla yapılması daha uygundur. Aktif hava örnekleme cihazları ile örnekleme yönteminde örnekleme farklı tekniklerle belirli bir miktar ortam havasını toplayıp, besiyeri üzerine püskürtür. Bu cihazlar yüksek verimli örnek alma özelliğine

sahiptir ve uygulanması oldukça kolaydır.

Sunulan tez kapsamında aktif hava örnekleme cihazı tasarımı yapılmıştır. Aktif hava örneklemede her bir yöntemin kendine özgü teknik özellikleri vardır ve örneklemenin özelliklerine göre hangi yöntemin kullanılacağına karar vermek doğru sonuç için önemlidir. Yöntemin seçilmesi esnasında dikkate alınması gereken faktörler örnekleme çevresi, kullanılacak analiz teknikleri ve izleme amacıdır. Örneklemede kullanılan uygun cihazlar, mikrobiyal toplama ve saptamadaki etkinliklerine etki eden birkaç parametreye bağlı olarak değişkenlik gösterir. İçeri çekim yeterliliği, toplama sırası ve sonrasında kurutmanın miktarı, toplama sırasında mikroorganizmanın çarpma hızı, toplanan mikroorganizmanın yüzey yoğunluğu gibi parametreler, koloni oluşumunun gölgelenmesine yol açabilecek parametrelerdir. Bu sebeplerden dolayı bu tasarım esnasında uygun yöntemi, çarpma hızını, örnekleme hacimlerini bulmak için farklı tasarımlar yapılarak hastane ortamında örnekleme yapılarak denenmiştir. Aktif hava örnekleme yöntemlerinden impaction ve filtrasyon yöntemlerinin her ikisi kullanılmıştır. Impaction yönteminin hastane gibi havada bulunan biyoesol sayısının düşük olduğu düşünülen zamanlarda kullanılabilen diğer yöntemlere göre daha yüksek oranda biriktirme sağlayan bir yöntem olduğu görünmüştür.

Piyasada bulunan aktif hava örnekleme cihazlarında havanın besiyerine çarptırılması sonrasında besiyeri içeren petri kaplar inkübasyon için etüv cihazında konulmaktadır. Tasarlanan hava örnekleme ile inkübasyon işleminin aynı sistem içerisinde yapılması sağlanmıştır. Ayrıca mikrobiyal hava toplama ve inkübasyon işlemleri boyunca mikroorganizmaların gelişimlerini takip etmek amacı ile sistemimize kamera sistemi ilave edilmiştir.

Böylece hastaneler, ilaç fabrikaları, biyokimya laboratuvarları veya buna benzer sağlık sektörlerinde enfeksiyon riskini azaltmak amacı ile hava kalitesinin saptanması ve takibinde kolaylık sağlanması amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Mikrobiyal Hava Toplayıcı, Aktif Hava Örnekleme, Impaction Yöntemi, Hava Örnekleme Sistemleri, Aerobiyokontaminasyon Kontrolü.

## **ABSTRACT**

### **DESIGN AND CONSTRUCTION OF MICROBIAL AIR COLLECTOR AND DETECTION**

**Duygu ERYILMAZ**

**Doctor of Philosophy, Bioengineering Division**

**Supervisor: Prof. Dr. Erhan BIŞKİN**

**April 2015, 117 pages**

Hospital infections which are significant health problem in Turkey and in the World, appeared in 48-72 hours after admission to hospital or within 10 days after discharged from hospital. The detection of air purifier or air pollution is very important step to take necessary precautions to prevent infections.

Nowadays, partical measuring and passive air sampling methods are widely used to detect air pollution in hospitals. However, partical measuring method only counts particles according to their size and does not give any information about the type of the microorganism. In the passive air sampling (sedimentation) method, open petri plates which contain nutrient medium are waited in the sampling environment for a length of time. Passive air sampling method is not quantitative. For these reasons, using active air sampler device is more suitable for air sampling. In the active air sampling method, sampler collects certain amount of environment's air by using different techniques and spray on the nutrient medium. These devices have high sample taking efficiency and easy to apply.

In this thesis, active air sampler device design is presented. In active air sampling, each method has unique technical properties and it is important to decide which method will be used to obtain right decision according to sampling features. Sampling environment, analysis techniques which will be used and monitoring aim are the factors during the method decision. Devices that will be used during sampling changes according to microbial determination and parameters that impacts determination activity. Parameters such as inlet efficiency and particle collection efficiency, collection line and drying amount, collection microorganisms crashing speed during sampling, collection microorganisms' surface density may shadow colony existence. For these reasons, different designs were developed to find out suitable method, hitting speed, sampling volume and these designs were tested in hospital environment. Both of impaction and filtration methods were used from active air sampling methods. It was seen that impaction method provides higher collection ratio than other methods at times when it is thought that bioaerosol number is low.

Devices in the market place have the system of petri plates which contain nutrient medium placed into incubator for incubation after air crash on the nutrient medium. With the air sampler design, incubation process realized in the same system. Furthermore, camera system incubation processes.

Hence, easier air quality determination and monitoring aimed in order to decrease infection risk at hospitals, pharmaceutical plants, biochemical laboratories or similar health related sectors.

**Keywords:** Microbial air collector, Active air sampler, Impaction method, Air sampling systems, Aerobiocontamination control system.

## TEŞEKKÜR

Bu tezin planlanması ve gerçekleştirilmesinde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, sonsuz sabrı, destek ve yardımları ile her zaman yanımda olan değerli hocam, danışmanım Sayın Prof. Dr. Erhan Bişkin'e,

En zorlandığım anlarda bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, destek ve yardımları ile her zaman yanımda olan değerli hocalarım Doç. Dr. Abbas Taner ve Doç. Dr. Gökhan Demirel'e,

Bana laboratuvarını açan, her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mustafa Türk'e,

Laboratuvar çalışmalarımnda bana yardımcı olan Hacettepe Üniversitesinden Araz ND ve Kırıkkale Üniversitesinden Gamze Turalı'a;

Hayatım boyunca anlayışı, sabrı ve fedakarlığı ile hep yanımda olan güç kaynağım biricik anneme;

Doktora süresi boyunca benden desteğini esirgemeyen sevgili eşim Fatih'e;

Hayatımın anlamları, canım oğlum ve canım kızım M.Dağhan Eryılmaz ve Yağmur Eryılmaz'a;

tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Duygu ERYILMAZ

Ankara, Nisan 2015



# İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ÇİZELGELER.....	ix
ŞEKİLLER .....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Mikroorganizmalar .....</b>	<b>4</b>
2.1.1. Mikroorganizmaların Üremelerine Etki Eden Faktörler .....	6
2.1.2. Mikroorganizma Büyüme Eğrisi.....	7
2.1.2.1. Lag Dönem .....	7
2.1.2.2. Logaritmik Çoğalma Dönemi .....	8
2.1.2.3. Durma (Kararlı hal) Dönemi .....	8
2.1.2.4. Logaritmik Azalma (Ölüm) Dönemi .....	8
2.1.3. Patojenik Mikroorganizmalar .....	9
<b>2.2. Hastane Enfeksiyonu .....</b>	<b>10</b>
2.2.1. Hastane İnfeksiyonlarına Yol Açan Sorunlu Mikroorganizmalar .....	12
<b>2.3. Hava Örnekleme Sistemleri .....</b>	<b>12</b>
2.3.1. Kimyasal bileşenlerin ölçümü .....	12
2.3.2. Sayım yöntemi.....	13
2.3.3. Partikül Sayımı .....	13
2.3.4. Koloni Sayım Yöntemleri .....	13
2.3.4.1. Pasif hava örnekleme (çöktürme-sedimentasyon) yöntemi .....	13
2.3.4.2. Aktif hava örnekleme yöntemleri ile örnekleme .....	14
2.3.4.2.1. Impaction (Çarpıtırma) Yöntemi .....	16
2.3.4.2.2. Impinger Yöntemi .....	17
2.3.4.2.3. Filtrasyon Yöntemi .....	19
2.3.4.2.4. Merkezkaç Kuvveti(Santrifüj) Yöntemi .....	20

2.3.4.2.5. Presipitasyon Temeline Dayalı Örnekleme Yöntemi .....	20
<b>2.4. Biyoaerosol Ölçüm Yöntemleri .....</b>	<b>21</b>
<b>2.5. Aerobiyokontaminasyon Kontrolü .....</b>	<b>26</b>
2.5.1. Temiz Odalar .....	28
2.5.2. Temiz Odaların Sınıflandırılmasına İlişkin Standartlar .....	28
2.5.2.1. U.S. Federal Standart 209.....	28
2.5.2.2. TS 11605 EN ISO 14644 Standardı .....	30
2.5.2.3. TS EN ISO 14698 (Temiz odalar ve birlikte kontrol edilen ortamlar - Biyokontaminasyon kontrolü ) .....	32
<b>3. SİSTEM TASARIMINDA MATERYAL VE METODLAR.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1. Mikrobiyal Hava Toplayıcı ve İnkübatör Sisteminin Tasarımı.....</b>	<b>34</b>
3.1.1. Toplama Bölümü .....	36
3.1.2. İnkübasyon Bölümü .....	39
3.1.3. İşletme Bölümü.....	41
3.1.4. Görüntüleme Bölümü .....	41
<b>3.2. Mikrobiyal Hava Toplayıcı ve İnkübatör Sisteminin Donanımı .....</b>	<b>42</b>
3.2.1. PIC16F876 İşlemcisi.....	42
3.2.1.1. PIC16F876 İşlemcisinin Temel Özellikleri .....	43
3.2.1.2. PIC16F876'nın Çevresel Özellikleri.....	45
3.2.1.3. PIC 16F876'nın Fiziksel Yapısı .....	45
3.2.1.4. PIC 16F876' nın PIN Tanımlamaları .....	46
3.2.1.5. Bellek Organizasyonu.....	47
3.2.1.6. Özel Fonksiyon Kaydedicileri .....	47
3.2.1.7. Veri EEPROM ve FLASH Program Hafızası .....	50
3.2.1.8. ZAMANLAMA 0 (TIMER0) Modülü ve TMR0 Kaydı.....	51
3.2.1.9. ZAMANLAYICI 1 (TIMER1) Modülü .....	51
3.2.1.10. ZAMANLAYICI 2 (TIMER2) Modülü .....	51
3.2.1.11. CAPTURE/COMPARE/PWM(CCP) Modülü .....	52
3.2.1.12. MSSP (Asıl Eşzamanlı Seri Port) Modülü .....	52
3.2.1.13. USART (Adreslenebilir Evrensel Senkronize/Asenkronize Alıcı/Verici) Modülü .....	52
3.2.1.14. ADC (Analog Dijital Konvertör) Modülü .....	53
3.2.1.15. Biçimlendirme (Konfigürasyon) Bitleri .....	53
3.2.2. PIC İşlemcisi ile Motor Hızı/Hava akış hızı Kontrolü (Elektronik Hız Kontrolörleri-ESC) ..	54
3.2.3. PIC İşlemcisi ile Sıcaklık Kontrolü (LM35 Santigrad Doğruluklu Sıcaklık Sensörü).....	55
3.2.3.1. LM35 Santigrad Doğruluklu Sıcaklık Sensörü.....	55
3.2.4. Devrenin Yapılması .....	57
<b>3.3. Mikrobiyal Hava Toplayıcı Sisteminin Yazılımı (PICBASIC) .....</b>	<b>59</b>
3.3.1. PIC BASIC Komutları .....	60
3.3.2. PIC BASIC Derleyicisi: Microcode Studio .....	60
3.3.3. PIC İçine Program Yüklenmesi ve IC-Prog Yazılımı .....	61
<b>4. DENEYSSEL ÇALIŞMALAR.....</b>	<b>62</b>
<b>4.1. Koloni Sayım Yöntemi Ve Partikül Sayımı Yöntemi Kullanılarak Hava Örnekleme .....</b>	<b>62</b>
4.1.1. Deneysel Çalışmanın Yapıldığı Ortam .....	63
4.1.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler .....	63
4.1.3. Örnekleme Sonrası İşlemler .....	66

<b>4.2. Mikrobiyal Hava Örneklemeye Cihazı ile Farklı Örneklemeye Hacimlerinde Örneklemeye Yapma</b>	<b>66</b>
4.2.1. Deneysel Çalışmanın Yapıldığı Ortam .....	66
4.2.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler .....	66
4.2.3. Örneklemeye Sonrası İşlemler .....	67
<b>4.3. Mikrobiyal Hava Örneklemeye Cihazı Kullanılarak Impaction ve Filtrasyon Yöntemi ile Örneklemeye Yapma</b> .....	<b>67</b>
4.3.1. Deneysel Çalışmanın Yapıldığı Ortam .....	67
4.3.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler .....	67
4.3.3. Örneklemeye Sonrası İşlemler .....	68
<b>4.4. Mikrobiyal Hava Örnekleyici Cihazının Oluşturulan Kapalı Ortamda Çalışması</b> .....	<b>69</b>
4.4.1. Deneysel Çalışmanın Yapıldığı Ortam .....	69
4.4.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma ( <i>Escherichia Coli</i> ) .....	70
4.4.3. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler .....	71
<b>4.5. Mikrobiyal Hava Örnekleyici ve İnkübatör Sistemi Kullanımı</b> .....	<b>74</b>
4.5.1. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler .....	74
<b>5. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME</b> .....	<b>77</b>
5.1. Koloni Sayım Yöntemi Ve Partikül Sayımı Yöntemi Kullanılarak Hava Örneklemeye .....	77
5.2. Mikrobiyal Hava Örneklemeye Cihazı ile Farklı Örneklemeye Hacimlerinde Örneklemeye .....	82
5.3. Mikrobiyal Hava Örneklemeye Cihazı Kullanılarak Impaction (Çarpıtırma) ve Filtrasyon Yöntemi ile Örneklemeye Yapma .....	85
5.4. Mikrobiyal Hava Örnekleyici Cihazının Oluşturulan Kapalı Ortamda Çalışması .....	88
5.5. Mikrobiyal Hava Örnekleyici ve İnkübatör Sisteminin Kullanımı .....	90
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>94</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>101</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>103</b>

## ÇİZELGELER

	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 2.1. İnsanın yaptığı hareketlere bağlı olarak oluşturduğu partikül yayılımı ....	27
Çizelge 2.2. U.S.209 D ve U.S.209 E standartlarına göre temiz oda sınıfları.....	29
Çizelge 2.3. Temiz odalar ve temiz bölgelerin seçilmiş, hava ile taşınan partikülden temizliğinin sınıfları .....	32
Çizelge 3.1. PIC 16F876'de PIN tanımlamaları .....	46
Çizelge 3.2 PIC16F876'de özel fonksiyon kaydedicileri ve fonksiyonları .....	49
Çizelge 3.3. PIC BASIC Komutları .....	60
Çizelge 4.1. Tasarlanan Mikrobiyal Hava Toplayıcı Cihazının Teknik Özellikleri .....	65
Çizelge 5.1. Örneklemeye Sonuçları.....	78
Çizelge 5.2. Fisher'e göre farklı hastane çevresinde havadaki toplam mikrobiyal sayımı .....	79
Çizelge 5.3. Çeşitli standartlara göre mikrobiyal kontaminasyon sınıflandırılması arasındaki korelasyon .....	80
Çizelge 5.4. Farklı Hacimlerde Yapılan Örneklemeye Sonuçları.....	84
Çizelge 5.5. Impaction ve Filtrasyon Yöntemleri Kullanılarak Yapılan Örneklemeye Sonuçları.....	86
Çizelge 5.6. 24 ve 48 saat sonunda cihaz ile absorbe edilen bakteri sayısı .....	90

## ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Havada Bulunan Farklı Türdeki Mikroorganizmaların Boyutları [3] .....	5
Şekil 2.2. Mikroorganizma büyüme eğrisi .....	9
Şekil 2.3. Aktif hava örnekleyici sisteminin çalışma prensibi .....	15
Şekil 2.4. Impaction Yöntemi .....	16
Şekil 2.5. Impaction Yöntemi, a) Sieve impactor b) Slit impactor .....	17
Şekil 2.6. Impinger Yöntemi .....	18
Şekil 2.7. Filtrasyon yöntemi .....	20
Şekil 2.8. Partikül sayıcının çalışma prensibi .....	22
Şekil 2.9. Havada bulunan kirletici maddeler .....	26
Şekil 3.1. İlk tasarladığım mikrobiyal toplayıcı sisteme ait a) dış görünüm, b) elektronik devre kartı, c) devre şeması, d) baskı devresi .....	35
Şekil 3.2. Tasarlanan portatif hava toplama ve inkübatör sistemi; a) Üstten görünümü, b) İç görünümü .....	36
Şekil 3.3. Kullanılan Fırçasız Doğru Akım Fan & Motoru .....	37
Şekil 3.4. Peltier'in iç yapısı .....	41
Şekil 3.5. İşlemcilerin mimari biçimi .....	43
Şekil 3.6. PIC 16F876 bacak yapısı görünümü .....	45
Şekil 3.7. PIC16F876 ile gerçekleştirilen fırçasız dc motor sürücü sistemi .....	54
Şekil 3.8. LM35 tümeşik devresi .....	56
Şekil 3.9. Sistemin blok diyagramı .....	57
Şekil 3.10. Sistemin baskı devresi .....	58
Şekil 3.11. Devre şeması .....	58
Şekil 3.12. Tasarlanan sistemin a) Dış görünümü, b) İşletme Bölümü .....	59
Şekil 4.1. İlk tasarlanan Mikrobiyal Hava Örnekleyici cihazımız .....	64
Şekil 4.2. Partikül Ölçüm Cihazı .....	65
Şekil 4.3. Örneklemeye Başlıkları a) Impaction Yöntemi, b) Filtrasyon Yöntemi .....	68
Şekil 4.4. Filtrasyon yöntemi ile yapılan örneklemeye sonrası filtrenin besiyerine uygulanması .....	69
Şekil 4.5. Çalışmanın yapıldığı deney düzeneği .....	70
Şekil 4.6. Farklı derişimlerde <i>Escherichia coli</i> elde etmek için gerçekleştirilen seyreltme protokolu .....	72
Şekil 4.7. A) Bakterileri ortama püskürtebilmek için kullanılmış olan steril parfüm şişeleri B) Farklı <i>Escherichia coli</i> derişimlere sahip olan parfüm şişeleri .....	73
Şekil 4.8. Çalışmanın yapıldığı deney düzeneği .....	74
Şekil 4.9. Sistemden alınan kamera görüntüleri .....	76
Şekil 5.1. 24 saat sonra, a) Aktif Hava Örneklemeye b) Pasif Hava Örneklemeye .....	77
48 saat sonra, c) Aktif Hava Örneklemeye d) Pasif Hava Örneklemeye .....	77
Şekil 5.2. Partikül Ölçüm Sonuçları .....	81
Şekil 5.3. 48 saat sonra a) 100 lt, b) 250 lt, c) 500 lt, d)1000 lt hacimlerinde örneklemeye .....	82
Şekil 5.4. Koloniler kanlı ve EMB besiyerine yeniden ekilmesi .....	83
Şekil 5.5. Partikül Ölçüm Sonuçları .....	85
Şekil 5.6. Partikül Ölçüm Sonuçları .....	87
Şekil 5.7. 24 saat sonra, a) 6 nolu petri kaptaki koloni oluşmadı, b) 5 nolu petri kaptaki	

17 koloni oluştu, c) 4 nolu petri kapta 61 koloni oluştu, d) 3 nolu petri kapta yaklaşık 440 koloni oluştu, e) 2 nolu petri kap uncountable, f) 1 nolu petri kap uncountable. ....	88
şekil 5.8. 48 saat sonra, a) 6 nolu petri kapta 2 koloni oluştu, b) 5 nolu petri kapta 19 koloni oluştu, c) 4 nolu petri kapta 62 koloni oluştu, d) 3 nolu petri kapta yaklaşık 440 koloni oluştu, e) 2 nolu petri kap uncountable, f) 1 nolu petri kap uncountable. ....	89
şekil 5.9 Mikrobiyal Hava Toplayıcı ve İnkübasyon cihazından 24 saat sonra alınan sonuçlar a) 1 dak. toplama ve 37 °C'de inkübasyon b) 24 saat boyunca 1 dak. toplama, 1 saat dinlenme ve 37 °C'de inkübasyon .....	91
şekil 5.10. Mikrobiyal Hava Toplayıcı ve İnkübatör Sistemi .....	92

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

$\mu$	İndüklenmiş Dipol
$^{\circ}\text{C}$	Derece santigrat
Pa	Pascal
W	Watt
A	Amper
V	Volt
mA	miliamper
sn	saniye
dk	dakika
mm	milimetre
MHz	Megahertz
Lt	Litre

### Kısaltmalar

ADC	Analog Dijital Çevirici
ATP	Adenozin Trifosfat (Adenosine triphosphate)
CEN	Avrupa Standartlar Komitesi (European Committee for Standardization)
CMOS	Bütünleyici Metal Oksit Yarıiletken (Complementary Metal Oxide Semiconductor)
DC	Doğru Akım (Direct Current)
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit

ESC	Elektronik Hız Kontrolörü
IMA	Mikrobiyal Hava Kirliliği Endeksi (Index of Microbial Air Contamination)
KOB	Koloni Oluşturan birim (Colony Forming Unit, CFU)
LCD	Likit Kristal Gösterge (Liquid Crystal Display)
NIR	Yakın Infrared (Near Infrared)
PIC	Çevresel Arayüz Denetleyicisi (Peripheral Interface Controller)
RI	Kırım İndeksi (Refractive Index)
SERS	Yüzey Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (Surface Enhanced Raman Spectroscopy)
SI	Uluslararası Birim Sistemi
SPR	Yüzey Plazmon Rezonans (Surface Plasmon Resonance)
TSE	Türk Standardları Enstitüsü



# 1. GİRİŞ

Hayatın devamı için gerekli olan en önemli unsurlarından birisi, havadır. Havanın içerisinde farklı yoğunluklarda olan yabancı maddeler (toz-toprak parçaları, bitki tozları, yün ve pamuk lifleri, vb) toz zerrecikleri halinde rüzgar veya hava akımı aracılığı ile iç ortamlara girmektedir. Ayrıca iç ortamlarda bulunan insanlardan, çeşitli eşya ve yapı malzemelerinden çıkan partiküller, radon gazı, sigara dumanı gibi kirleticiler de iç ortam havasında bulunmaktadır. Mikroorganizmalar bu maddelere bağlı olarak ya da serbest olarak ortamda bulunurlar. Bu nedenle, ortam havası çok sayıda mikrobiyal etken içermektedir. Bioaerosol olarak da adlandırılan bu etkenler çeşitli yollarla canlılara bulaşabilmekte ve böylece enfeksiyon zincirini başlatmaktadır.

Dünyada ve ülkemizde ciddi bir sağlık sorunu olan hastane enfeksiyonları, tedavisindeki güçlük nedeni ile hastanedeki kalış süresinin uzamasına neden olurken aynı zamanda tedavi masraflarının artması ve işgücü kaybı ile ekonomik sorunlara sebep olmaktadır. Ayrıca yüksek ölüm oranı ve ikincil sebeplerle ölümlere yol açabilmektedir [1]. Günümüzde hastane enfeksiyonlarının önemini gösterebilmek ve oluşum nedenlerini ortaya çıkarmak ve gerekli önemleri almak amacıyla çalışmalar yapılmaktadır. Hastane enfeksiyonlarının görülme sıklığı %3-21 arasında değişmekte olup ortalama %8,4 olarak bildirilmektedir [2]. Hastanelerde enfeksiyona neden olan en sık izole edilen patojenler *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*, *Candida albicans*'dir [3].

Hastanelerde hava temizliğinin ya da kirliliğinin belirlenmesi, gerekli önlemlerin alınarak enfeksiyonların engellenmesi anlamında önemlidir. Ortam havasının mikrobiyel yükünü belirlemeye yönelik, cihaza dayalı olan veya olmayan çeşitli analiz teknikleri bulunmaktadır [4]. Bu analiz tekniklerinden kimyasal bileşenleri ölçmeye dayalı yöntemler pratik ve güvenilir olmayıp, sayım yönteminde kullanılan optik veya floresans mikroskop otomatik sayım uygulamalarında oldukça sınırlıdır. Partikül sayımında ise partiküllerin büyüklüğüne ve yoğunluğuna göre sayım yapılabilinmekte olup partiküllerin inert olup olmadığı ve türü saptanamamaktadır. Koloni Sayım Yöntemi m<sup>3</sup> başına düşen koloni oluşturan birim (kob/ m<sup>3</sup>- cfu/ m<sup>3</sup>) değerini verir. Koloni oluşturan

birim (kob) sayısı, üreyen canlı mikroorganizmayı tespit edebilen en önemli parametredir. Koloni sayım yöntemi ile örnekleme pasif ve aktif olmak üzere iki şekilde yapılır. Pasif hava örnekleme (çöktürme-sedimentasyon) yönteminde katı besiyeri bulunan petri kaplar örnekleme yapılacak ortam içerisinde belirli bir süre açık bırakılması şeklinde yapılmakta olup yöntemin uygulanması basit ve ucuz olması, kritik yüzeylerle ilgili anlamlı sonuçlar vermesi, aynı anda birden fazla yerden örnek alınabilmesine karşın nicel değildir. Aktif hava örnekleme yönteminde, örnekleme cihazları farklı tekniklerle havanın belirli bir hacminin çekilmesi ve besiyeri üzerine püskürtülmesi prensibine göre çalışırlar. Aktif hava örnekleme işleminde beş farklı yöntem kullanılmaktadır. Bunlar impaction, impinger, filtrasyon, santrifüj ve termal presipitasyon yöntemleridir.

Bu tez kapsamında öncelikler aktif hava örnekleme yapan bir mikrobiyal hava toplayıcı cihaz tasarlanmıştır. Tasarlanan bu cihaz impaction prensibi ile çalışmakta olup 100 lt/dak akış hızına sahiptir. Tasarlanan bu cihaz ile öncelikle yoğun bakım ve yanık ünitelerinde hava örnekleme yapılmış, alınan sonuçlar aynı ortamdaki partikül sayımı ve pasif hava örnekleme yöntemleri ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca kapalı bir ortam oluşturularak ortam içerisine belirli miktarda mikroorganizma püskültülerek tasarlanan cihazın toplama verimliliği test edilmiştir. Örneklemede kullanılan aktif hava örnekleme cihazları, mikrobiyal toplama ve saptamadaki etkinliklerine etki eden birkaç parametreye bağlı olarak değişkenlik gösterir. İçeri çekim yeterliliği, toplama sırası ve sonrasında kurutmanın miktarı, toplama sırasında mikroorganizmanın çarpma hızı, toplanan mikroorganizmanın yüzey yoğunluğu gibi parametreler, koloni oluşumunun olmamasına yol açabilecek parametrelerdir. Bu sebeplerden dolayı bu tasarım esnasında uygun yöntemi, çarpma hızını, örnekleme hacimlerini bulmak için farklı tasarımlar yapılarak hastane ortamında örnekleme yapılarak denenmiştir. Aktif hava örnekleme yöntemlerinden impaction ve filtrasyon yöntemlerinin her ikisi kullanılmıştır. Impaction yönteminin hastane gibi havada bulunan bioaerosol miktarının az olduğu düşünülen yerlerde kullanılabilen ve diğer yöntemlere göre daha yüksek oranda biriktirme sağlayan bir yöntem olduğu görülmüştür.

Piyasada bulunan aktif hava örnekleme cihazlarında havanın besiyerine çarptırılması sonrasında besiyeri içeren petri kaplar inkübasyon için etüv cihazında konulmaktadır.

İnkübe işlemleri sonrasında koloni sayımı ve mikroorganizma tanısı yapılmaktadır. Tasarlanan hava örnekleyici ile inkübasyon işleminin aynı sistem içerisinde yapılması sağlanmıştır. Ayrıca mikrobiyal hava toplama ve inkübasyon işlemleri boyunca mikroorganizmaların gelişimlerini takip etmek amacıyla sistemimize kamera sistemi ilave edilmiştir.

Son olarak ortamda toplanan mikroorganizmaların tayinini yapmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Böylece hastaneler, ilaç fabrikaları, biyokimya laboratuvarları ve buna benzer sağlık sektörleri için hava kalitesinin saptanması ve takibinde kolaylık sağlanması amaçlanmıştır.

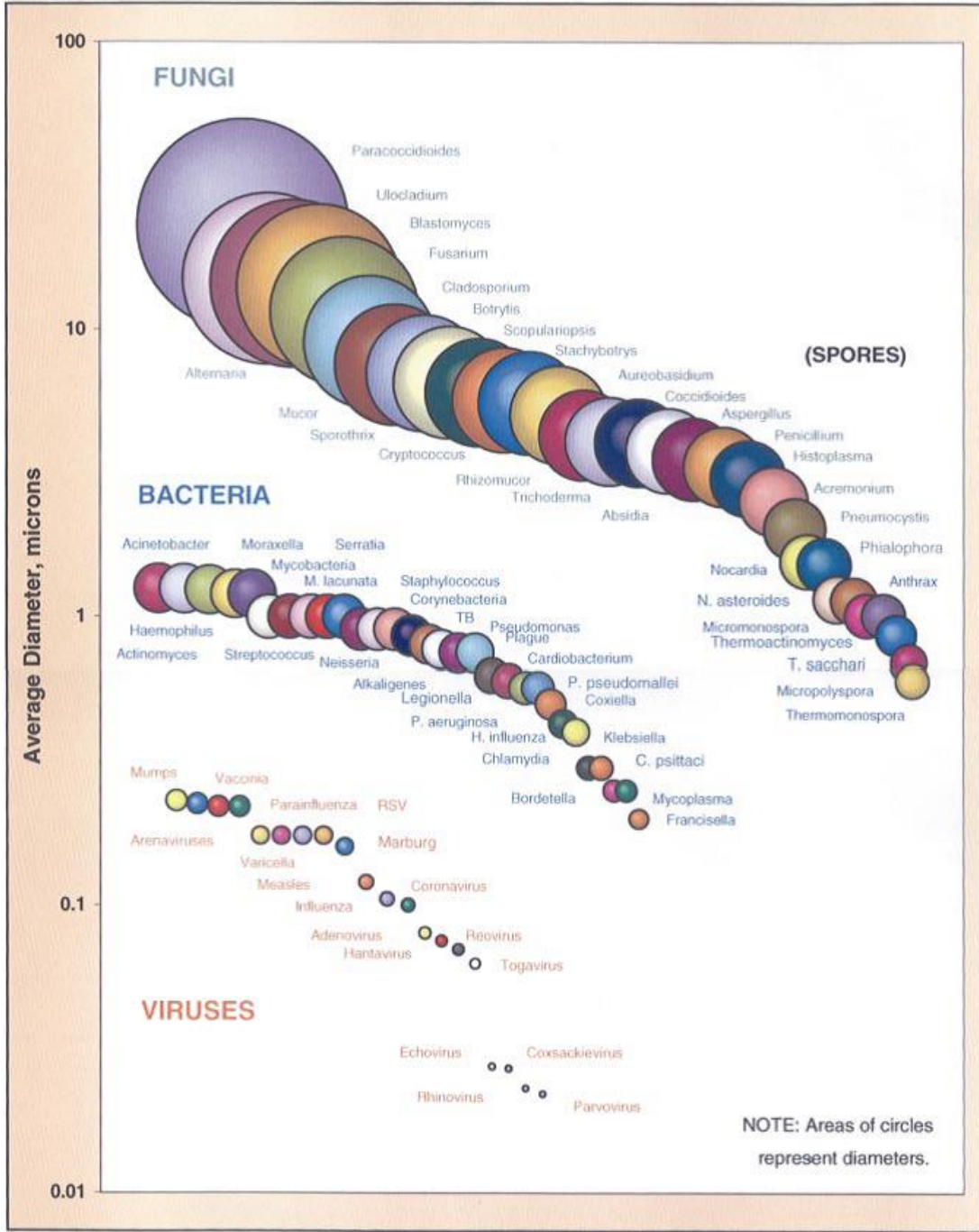
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mikroorganizmalar

Mikroorganizma, çıprak gözle görülemeyen ve çoğunlukla tek hücreli yapıda olan geniş bir canlı topluluğunun genel adıdır. Mikroorganizmalar yeryüzünde yaklaşık 3,5 milyar yıl önce oluşmuş olan ilk canlı türüdür. Hücresel yapıda olan ve hücresel yapıda olmayan şekilde gruplara ayrılmaktadır. Hücresel yapıda olanlar bakteriler, mantarlar, protozoalar, algler ve hücresel yapıda olmayan virüslerdir. Dünyada 500.000 - 6.000.000 arasında çeşitli türden mikroorganizma olduğu düşünürmekte olup günümüzde bunların %5 'inden daha azı olduğu kabul edilen 3500 bakteri, 90.000 fungi, 100.000 protist tanımlanabilmiştir [5]. Şekil 2.1'de havada bulunan farklı türdeki mikroorganizmaların yaklaşık boyutları gösterilmiştir [3].

Mikroorganizma denildiğinde aklımıza ilk olarak tek hücreli canlılar gelmektedir. Ancak mikroorganizmalar içerisinde çok hücreli olan bazı canlı tipleride bulunmaktadır. Mikroorganizmalar yer kürenin derinliklerinde, atmosfer tabakalarında, okyanusların derinliklerinde yani ekosistemin her yerinde yaşayabilmekte ve ekosistemde önemli önemli görevleri vardır.

Mikroorganizmaların büyük bir kısmını oluşturan bakteriler, tek hücreli mikroorganizma grubudur. Bakteriler genellikle birkaç  $\mu\text{m}$  uzunluğunda olup küresel (coccus) , spiral (spirillum) ve çubuksu (bacillus) şekillere sahiptirler. Bakteriler; toprakta, denizde, okyanusların derinliklerinde, yer kabuğunda, deride, hayvanların bağırsaklarında, asitli sıcak su kaynaklarında kısaca her bulunmaktadır. Mantarlar, protozoalar ve algler tek hücreli oldukları gibi çok hücrelide olabilirler. Virüsler diğer mikroorganizmalardan farklıdır. Oldukça küçük olduklarından sadece elektron mikroskobu ile görülebilir. Yaşamsal faaliyetler gösterebilmesi için canlı bir hücreye girmesi gerekmektedir. Hücre dışında ise kristal halde bulunur. Virüsler küresel, çubukçu ve elips şeklinde olabilirler[5].



Şekil 2.1. Havada Bulunan Farklı Türdeki Mikroorganizmaların Boyutları [3]

Mikroorganizmalar canlılar için enfeksiyon kaynağı olmasının yanında besinlerin ayrıştırılması, canlıların bazılarında besin maddesi sağlaması, iklim ve yağış olaylarında

görev alması, azot döngüsünün gerçekleşmesinde önemli rol alması ile ekosistemde yaşamın var olabilmesi için oldukça önemlidir.

Mikroorganizmalar uygun koşulları buldukları her ortamda üremeye elverişlidirler. Ortam pH'sı, sıcaklık, oksijen ortamının sağladığı koşullarda kolaylıkla üreyebilirler. Üremeye etki eden en önemli etkenlerden biri de ortamdaki besinlerdir. Özellikle glikoz, laktoz, sakkaroz, maltoz gibi şekerler ve azot, fosfor, kalsiyum, magnezyum, potasyum gibi maddeler mikroorganizmaların büyümesini sağlayan ana besin maddeleridir.

Mikroorganizmalar oksijen ihtiyaçlarına, kullandıkları besin maddelerine ve enerji ihtiyaçlarına göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. Oksijen ihtiyaçlarına göre aerobik, anaerobik, fakültatif ve mikroarofilik olarak dört gruba ayrılır. Kullandıkları besin maddelerine göre inorganik olanlar (litotrof) ve organik besin kullananlar (organotrof) olarak iki gruba ayrılır. Enerji ihtiyacını organik bileşiklerden sağlıyorsa hetotrof, CO<sub>2</sub>'den temin ediyorsa ototrof, güneş ışığı kullanarak fotosentez gerçekleştirenlere fototrof, enerjilerini kimyasal maddelerden sağlayan mikroorganizmalara kemotrof olarak adlandırılır[5].

Günümüzde mikroorganizmaları inceleyen bilim dalına mikrobiyoloji denilmekte olup bu bilim dalı mikroorganizmaları inceleyerek bilim dünyasına destek sağlamaktadır. Mikroorganizmaların varlığı ilk olarak Hollandalı bir bilim adamı olan Antonie van Leeuwenhoek tarafından tasarladığı mikroskopla görüntülenmesi ile 17. Yüzyılın son yıllarında keşfedilmiştir.

### **2.1.1. Mikroorganizmaların Üremelerine Etki Eden Faktörler**

Mikroorganizmalar yaşamak ve üremek için belirli sıcaklık ortamında bulunması gerekmektedir. Sıcaklık, mikroorganizmaların yaşadığı inkübasyon ortamı içerisindeki çözülmüş oksijen derişimini ve buna bağlı olarak biyolojik aktiviteyi oldukça etkilemektedir. Aerobik solunum gerçekleştiren mikroorganizmaların üremesinde önemli etkenlerden birisi oksijene ulaşım imkânıdır. Mikroorganizmaların optimum üreme gerçekleştirebilmeleri için belirli bir sıcaklık ve pH aralığına sahip olması gerekir. Bu pH değerinin altında veya üstünde bir pH değerine sahip olması durumunda mikroorganizmanın büyüme hızı azalacak ve ya varlığını sürdürmesi için enerji

gereksinimi artacaktır [6,7].

Mikroorganizmalar, uygun besi ortamı ve çevresel koşullar bulduklarında, türlerine özgü bir hızla çoğalırlar. Bu koşullar devam ettiği sürece çoğalma sürekli devam eder. Fakat laboratuvar ortamında, mikroorganizmaları üretmek için kullanılan besi yerleri belirli bir miktarda olduğundan buna bağlı olarak üremede sınırlı olacaktır. Mikroorganizmalar çoğaltıkça, ortamda bulunan gıda maddeleri azalır ve biter. Uygun koşulların değişmesi (pH, osmotik basınç, oksijen, yüzey gerilimi, vs.) ve besi yerinde toksik metabolitlerin birikmesi, miktarı az olan besi yerinde üremeyi kısa bir süre sonra baskılar ve durdurur [5,8].

### **2.1.2. Mikroorganizma Büyüme Eğrisi**

Mikroorganizmaların sayısının zamana göre değişiminin grafiği logaritmik olarak çizildiğinde, başlangıçta oldukça yavaş büyüdükleri, bir süre sonra büyümede logaritmik olarak artış olduğu görülmektedir. Ancak, zamanla ortamdaki besi maddesi azaldığından ölüm olayının hızlanacaktır. Mikroorganizma büyüme eğrisi olarak da adlandırılan bu olay Şekil 2.2'de gösterildiği üzere; genel olarak Lag Dönem, Logaritmik Çoğalma Dönemi, Durma (Kararlı hal) Dönemi ve Logaritmik Azalma (ölüm) Dönemi olmak üzere 4 evreden oluşmaktadır [9].

#### **2.1.2.1. Lag Dönem**

Mikroorganizmaların bulunduğu ortamdaki miktarları sabit olup, bölünmenin başlamadığı ve mikroorganizmaların kendilerini üremeye hazırladıkları, metabolik faaliyetlerinin arttırdıkları dönem lag dönemi olarak adlandırılır. Mikroorganizmalar aktif olarak çoğalabilmesi için kendilerini buldukları ortama adapte olmaları gerekir. Bu dönemde mikroorganizmalar iki hücreye yetecek protoplazma ve diğer gerekli maddelerin sentezi yapılır ve çoğalma için gerekli enzimler oluşturulur. Substrat ile mikroorganizma uyumlu ise lag dönemi kısa, uyumsuz ise uzun olabilir. Bu dönemin süresi mikroorganizmanın türüne ve ortamın özelliklerine ( pH, sıcaklık vb. diğer faktörlere) bağlıdır. Lag dönemine alışma dönemi de denilmektedir [9].

### **2.1.2.2. Logaritmik oğalma Dönemi**

Bu dönemde hücreler hızlı bir bölünme sürecine girer ve bir bakteri bir kaç dakika gibi çok kısa bir sürede bölünerek bir bakteri popülasyonu olarak adlandırılabilir bir büyüme durumu meydana gelir. Bu dönemde bazı bakterilerde ölür, ancak çoğalma hızının yanında çok az hatta ihmal edilebilir miktardadır. Bu dönemdeki hücre sayısının logaritması zamana karşı düz bir eğri göstermektedir. Ancak logaritmik çoğalma dönemi sonsuza kadar devam etmemektedir. Ortamdaki besi maddelerinin azalması, metabolizma artışı toksik maddelerin artması, pH'ın elverişsiz duruma gelmesi gibi nedenler ile solunum ve beslenme zorlaşmakta ve bu sebeplerden dolayı üreme azalmaktadır [9].

### **2.1.2.3. Durma (Kararlı hal) Dönemi**

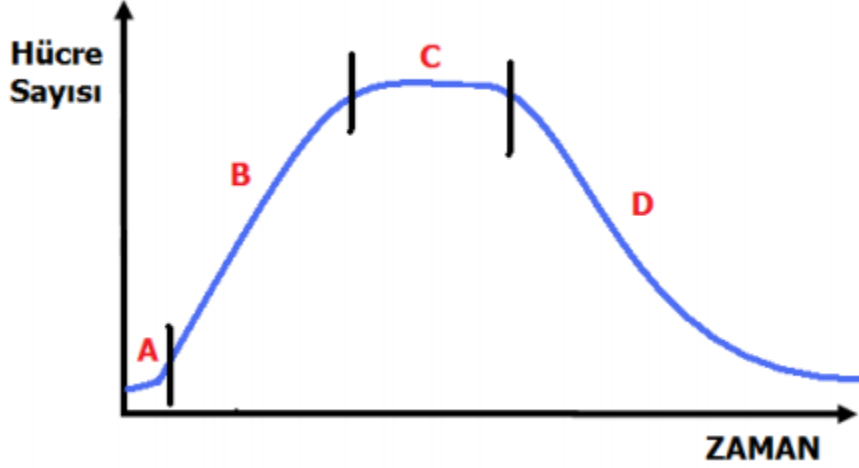
Mikroorganizma durma dönemine geldiğinde bulunduğu ortamda bazı değişiklikler meydana getirmiş olur. Hızlı büyüme nedeni ile ortamdaki besi maddeleri azalmış ve hücrelerin metabolik faaliyetlerinin sonucu metabolitler artmıştır. Artık ortamda biriken maddeler büyümenin devam etmesini engeller. Örneğin; Maya hücreleri alkol salgılar ve salgıladıkları alkol miktarı ortamın % 15'i geçtiği zaman öldürücü olur. Bu dönemde üreme yavaşlamakta, çoğalma oranında hücre ölmektedir. Bu sebepten canlı hücre sayısı aynı kalmaktadır. Populasyon eğrisinde bu dönem düz veya düze yakın bir çizgi görülür. Bu dönemin uzunluğu veya kısalığı mikroorganizma türüne göre değişiklik gösterir [9].

### **2.1.2.4. Logaritmik Azalma (Ölüm) Dönemi**

Logaritmik azalma dönemi, ölenlerin sayısının üreyenlerin sayısından fazla olduğu dönemdir. Bu dönemde ortam koşulları bakterilerin çoğalması için elverişsiz hale geldiğinden hücreler hızla ölmekte ve bu ölüm olayı logaritmik olarak meydana gelmektedir. Populasyon eğrisinde bu dönem düz bir çizgi halinde görülmektedir. Bakteriler ortamdaki tamamen yok olmazlar. En azından bir kaç tanesi hayatını devam ettirir. Son uyku dönemi de adı verilen bu dönemde bakterilerin tamamen yok olması için uzun bir sürenin geçmesi gerekmektedir. Bu evrede mikroorganizmalar çeşitli



şekillerde davranırlar. Bir yandan üreme devam ederken, diğer yandan ölümler sürer. Bazı mikroorganizmalar ise sistemlerini yavaşlatmış şekilde beklerler. Mikroorganizmaların bu tarz durumları birbirlerini dengelediği için mikroorganizma sayısında belirli bir artış olmaz [9].



Şekil 2.2. Mikroorganizma büyüme eğrisi

### 2.1.3. Patojenik Mikroorganizmalar

Mikroorganizmalar geniş bir canlı topluluğu olup bunların bazıları insan ve hayvan sağlığı açısından olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir. Bu tür mikroorganizmalar patojenik mikroorganizmalar olarak adlandırılır. Patojenik mikroorganizmalar dışında kalan mikroorganizmalar enfeksiyon veya hastalık oluşturmayan mikroorganizmalar olup apatojenik mikroorganizmalar olarak adlandırılır. Bununla birlikte, genellikle hastalık oluşturmadığı bilinen bazı mikroorganizmalar, fazla stres sebebi ile konakçının direncinin kırıldığı durumlarda veya diğer bazı durumlarda (immün yetmezlik hastalıklarında, immün supresif bireylerde, gizli enfeksiyona sahip olanlarda, vs) vücutta üreyerek ve yayılarak enfeksiyonlara ve hastalıklara yol açabilmektedirler (fakültatif patojenler veya oportünist mikroplar). Yutak, larinks, sindirim, solunum ve ürogenital sistem de, deri ve mukozalarda bulunan mikroorganizmalar bunlara örnektir. Bu etkenler, aynı zamanda, bu sistemlerin ve bölgelerin mikroflorasını da oluşturmaktadırlar. Bunların aksine, bazı mikroorganizmaların patojenitesi (hastalık yapma yeteneği) pasajlarla, mutasyonlarla, doğal seleksiyonlarla veya özel işlemlerle

(biyoteknolojik yöntemlerle) azaltılabilmekte ve ya değiştirilebilmektedir (attenüasyon) [5].

Enfeksiyonlar, genellikle konakçı ile patojenik mikroorganizmaların karşılıklı etkileşimleri sonucunda meydana gelir. Eğer vücuda patojenik mikroorganizma girmiş, lokalize olmuş ve üremişse, o bireyde enfeksiyon var demektir. Eğer, klinik semptomlar ortaya çıkmışsa, o zaman enfeksiyona bağlı hastalık meydana gelmiş olur. Mikroorganizmalardan ileri gelen hastalıklar enfeksiyöz hastalıklar adı da verilmektedir.

Vücudun dış veya iç yüzeyleriyle temasa geçen patojenik etkenler, kendilerinde bulunan çeşitli adhesyon molekülleri ile konakçı hücre yüzeylerinde ki özel reseptörlere (glikoprotein, lipoprotein, glikolipid, vs.) bağlanırlar. Patojenik mikroorganizmalar sadece yüzeylerde yerleşerek bozukluklar meydana getirebilecekleri gibi (lokalize enfeksiyonlar), yüzeylerden daha derinlere, buralardan da kan veya lenf yolu ile bütün vücuda (veya afinitesi olan doku veya organlara) yayılabilir ve tehlikeli enfeksiyonlara yol açabilirler (sistemik veya generalize enfeksiyonlar). Bazen enfeksiyon bir organa (barsak, akciğer, beyin, vs) yerleşmiş de olabilir.

Patojenik bir ajan vücuda girdikten hastalık belirtilerinin ortaya çıkıncaya kadar geçen süre (inkübasyon periyodu, kuluçka süresi), bazen çok kısa (birkaç gün), bazen de 1-2 hafta veya daha uzun (aylar, yıllar) olabilir. Bu durum, giren mikroorganizmanın virulansına (bir mikrobun patojenliği, yani onun hastalığa neden olma yeteneğine), miktarına, giriş yoluna, ayrılış tarzına, konakçının duyarlılığına ve çevre koşullarına bağlıdır [2].

## **2.2. Hastane Enfeksiyonu**

Hastane enfeksiyonu başka sağlık sorunları nedeniyle hastanede tedavi gören hastada gelişen enfeksiyondur. Genel olarak, hastaneye yattıktan 48-72 saat sonra gelişen veya taburcu olduktan 10 gün sonrasına kadar geçen sürede ortaya çıkan enfeksiyonlar 'hastane enfeksiyonu' olarak adlandırılmaktadır.

Hastane enfeksiyonlarının genellikle hastane florası ile kolonizasyonu takiben hastaların endojen floralarından kaynaklanan mikroorganizmalarla gerçekleştiği bilinmektedir. Hastane florası; sağlık çalışanları, hastalar, hastane ortamındaki çevrede

(hava, su, tıbbi araç ve gereçlerin yüzeyleri, vb) bulunan ve toplum kökenli enfeksiyon etkenlerine göre daha dirençli olan ve tedavisi sorun yaratan mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Ameliyata alınarak invaziv girişim yapılan hastaların pek çoğunda gerek immün sistem baskılandığı (stress ve korkuya bağlı olarak) için gerekse vücudun en büyük koruyucu mekanizmalarından biri olan derinin bütünlüğü bozulduğundan hastane enfeksiyonu olmaları kaçınılmazdır [10].

Hastane enfeksiyonları tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de ciddi bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya Sağlık Organizasyonu verilerine göre hastanelerde yatan her 10 hastadan birinde hastane enfeksiyonu oluşmakta ve hastane enfeksiyonlarının sebep olduğu ölümler gelişmiş ülkelerde bile ilk 10 ölüm nedeni içinde yer almaktadır. Gelişmiş ülkelerde hastanede yatarak tedavi gören hastaların %5-10' unda hastane enfeksiyonu görülürken, bu sorunun gelişmekte olan ülkelerde %25' e kadar çıktığı bildirilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde bile yılda en az 30.000 kişinin hastane enfeksiyonu nedeni ile yaşamını yitirdiği, hastanede kalış süresinin hasta başına 7-10 gün uzadığı ve yılda 5-10 milyar dolar ek maliyete neden olduğu vurgulanmaktadır. Böylesine önemli morbidite ve mortaliteye neden olmaları yanısıra tedavi maliyetini önemli ölçüde arttırmalarından dolayı son 30 yıldır hastane enfeksiyonları ve kontrolü giderek daha fazla önemsenmeye başlanmıştır. Tanı ve tedavi amacı ile uygulanan çeşitli invaziv girişimler ve operasyonlar ile bir yandan insan yaşamı uzamakta ve yaşam kalitesi yükselmekte, diğer yandan bu girişimler nedeni ile dirençli mikroorganizmalarla hastane enfeksiyonları oluşmakta ve yaşamı tehlikeye atmaktadır[11,12].

Her hastanenin hasta profili, hasta florasını oluşturan mikroorganizmalar, bunların direnç paternleri, her bölümdeki hastane enfeksiyonu dağılımını ve sıklığı farklı olduğundan herbir ortam için havanın mikrobiyel yükünün belirlenmesi doğru stratejilerin geliştirilmesine yardımcı olur [4].

Standartlarda istenen iç hava kalitesinin sağlanması için iç ortam havasının incelenmesi ve elde edilen sonuçlara göre ideal mühendislik çözümlerinin bulunması çok önemlidir.

### **2.2.1. Hastane İnfeksiyonlarına Yol Açan Sorunlu Mikroorganizmalar**

Hastane enfeksiyonların da önceleri gram-pozitif bakteriler daha fazla görülürken, 1970 yılı sonrasında gram-negatif bakterilerin yol açtığı hastane enfeksiyonları görülmeye başlamıştır. Günümüzde ise hastanelerdeki hasta profili, hasta yoğunluğu, hizmet türü ve kullanılan antibiyotiklere göre bazen gram-pozitif bakteriler ön planda iken, bazen gram-negatif bakteriler ön planda olmaktadır [2].

Hastanelerde enfeksiyona neden olan en sık izole edilen patojenler *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*, *Candida albicans*'dır [3].

### **2.3. Hava Örneklemeye Sistemleri**

Ortam havası çok sayıda mikrobiyal etken içerebilmektedir. Bioaerosol olarak da adlandırılan bu etkenler hava kalitesine etki ettiği gibi; hastaneler, ilaç fabrikaları, laboratuvarlar ve buna benzer sağlık sektörlerinde enfeksiyon riski açısından önemlidir.

Ortam havasının mikrobiyel yükünü belirlemek için, cihaza dayalı olan veya cihaza dayalı olmayan çeşitli analiz yöntemleri bulunmaktadır. Bu analiz yöntemleri,

1. Kimyasal bileşenlerin ölçümü yöntemi,
2. Sayım yöntemi,
3. Partikül Sayımı yöntemi,
4. Koloni sayım yöntemleri olmak üzere dört gruba ayrılabilir[13].

#### **2.3.1. Kimyasal bileşenlerin ölçümü**

Kimyasal bileşenleri ölçmeye dayalı metotlarda 1 m<sup>3</sup> havada bulunan mikroorganizma hücrelerinin kimyasal bileşenlerinin ölçümü söz konusudur. ATP, DNA, enzimler vb. kimyasal bileşenlerin ölçümünün duyarlılığı yeterince hassas olmadıklarından havadaki mikroorganizmaları saptamada kullanılan pratik ve güvenilir metotlardan biri değildir [13].

### **2.3.2. Sayım yöntemi**

Mikroskop veya floresans mikroskopla yapılan otomatik sayım uygulamaları oldukça sınırlıdır [13]. Mikroskopik sayımların 4–5 dakika içinde sonuç alınabilmesi ve kültürel yöntemlerle kıyaslandığında maliyetinin yok denilecek kadar düşük olması gibi çok önemli iki üstünlüğü olmakla birlikte, canlı ve ölü mikroorganizmaların beraberce sayılması gibi bir dezavantajı olması nedeni ile fazla kullanılmamaktadır.

### **2.3.3. Partikül Sayımı**

Partikül sayımında çok kanallı taşınabilir modeller kullanılmakta olup partikülün büyüklüğüne göre sayım yapılmaktadır. Partikül sayımı yöntemi özellikle fungal kültürlerle karşılaştırıldığında çok hızlı sonuç verdiği ve acil önlem alınması gereken yerler için uygundur. Ancak partikül ölçümlerinde tespit edilen partiküllerin inert olup olmadığı saptanamamaktadır. Partikül ölçümü sonucu partikül boyutlarına göre tespit edilen partikül bilgisi verilmektedir.

### **2.3.4. Koloni Sayım Yöntemleri**

Koloni Sayım Yönteminde  $m^3$  başına düşen koloni oluşturan birim (kob/  $m^3$ - cfu/  $m^3$ ) değerini verir. Koloni oluşturan birim (kob) sayısı, üreyen canlı mikroorganizmayı tespit edebilen en önemli parametredir. Bu yöntemler;

- a. Pasif Hava Örneklemeye yöntemi ( Çöktürme-Sedimentasyon),
- b. Aktif Hava Örnekleyiciler ile örneklemeye yöntemidir.

#### **2.3.4.1. Pasif hava örneklemeye (çöktürme-sedimentasyon) yöntemi**

İlk olarak Louis Pasteur mikroorganizmaları toplamak için besiyerini ortama bırakmıştır. Sonra da Robert Koch tarafından iç havadaki mikrobiyal kontaminasyonu belirlemek için plaka açma yöntemini kullanmaya başlamıştır [13]. Günümüzde bu yöntem birçok alanda kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Bu yöntemde örneklemeye yapılacak alanda uygun katı besiyeri içeren petri kutuları belirli bir süre açık bırakılır. Standart olmamakla birlikte 15 dakika-1 saat arası bir süre petri kutular bu alanda bekletildikten sonra petri kapakları kapatılarak  $36 \pm 1$  °C sıcaklıkta inkübe edilir. İnkübasyon sonucu,

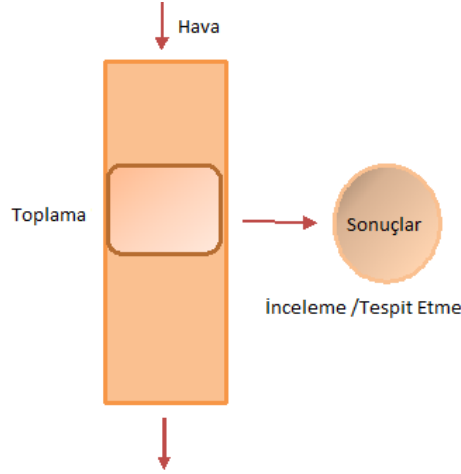
mikroorganizma kob veya partikül sayısı olarak tespit edilmektedir.

Havada bulunan partiküller, kütlelerine bağlı olarak ve yerçekiminin etkisiyle (yaklaşık 0.46 cm/sn hızla ) açık bırakılan petri kaplarına düşmektedir [14]. Büyük partikülleri daha fazla toplar ve ortamdaki havanın hareketlerine duyarlıdır. Alanın büyüklüğü ile petri kabı arasında hiçbir ilişki yoktur. Örnek alınan havanın hacmi bilinmediğinden sonuç nitel değildir. Havada bulunan mikroorganizma konsantrasyonu fazla olduğunda, sayımda problem çıkabilmektedir. Ayrıca örnek toplama süresinin standart olmaması nedeni ile resmi kılavuzlar tarafından her zaman kabul edilmemektedir. Petri açma yönteminin uygulanması kolay olmasına karşın, tahmin edilenden daha az sayıda mikroorganizma tespitine sebep olmakta ve bu nedenle kullanılması pek önerilmemektedir [15,16,17,18].

Yöntemin uygulanması basit ve masrafsız olması, aynı anda birçok bölgeden örnek alınabilmesi, kritik yüzeylerle ilgili anlamlı sonuçlar vermesi gibi avantajlara sahip olmasına rağmen bu yöntem havadaki mikroorganizma miktarını tahmin etmekte ancak tam olarak sayısını vermemektedir [13,19,20,21].

#### **2.3.4.2. Aktif hava örnekleyicileri ile örnekleme**

Aktif hava örnekleyiciler, toplama ortamına havanın belirli bir hacminin çekilmesi prensibine dayanır. Şekil 2.3'de aktif hava örnekleyici sisteminin çalışma prensibi gösterilmiştir. Aktif hava örnekleme işlemi beş farklı yöntem kullanılarak yapılabilmektedir. Bunlar impaction, impinger, filtrasyon, santrifüj ve termal presipitasyon yöntemleridir [22,23].



Şekil 2.3. Aktif hava örnekleyci sisteminin çalışma prensibi

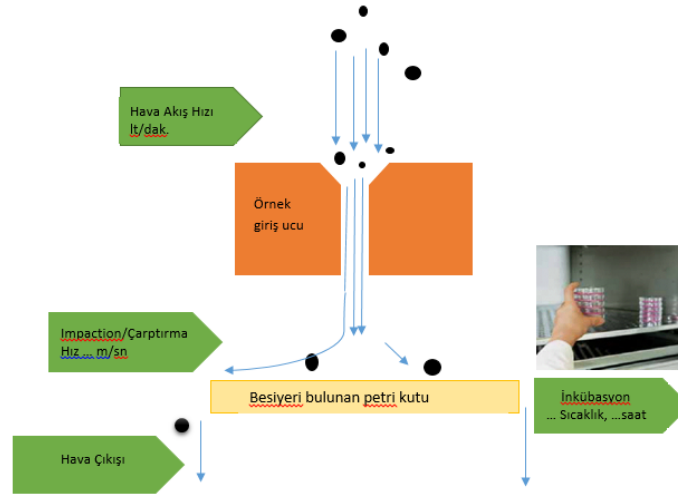
Her bir metodun kendine özgü teknik özellikleri vardır ve örneklemenin özelliklerine göre hangi yöntemin kullanılacağına karar vermek doğru sonuç için önemlidir. Yöntemin seçilmesi esnasında dikkate alınması gereken faktörler örnekleme çevresi, kullanılacak analiz teknikleri ve izleme amacıdır. Örneklemede kullanılan uygun cihazlar, mikrobiyel toplama ve saptamadaki etkinliklerine etki eden birkaç parametreye bağlı olarak değişkenlik gösterir. İçeri çekim yeterliliği, toplama sırası ve sonrasında kurutmanın miktarı, toplama sırasında mikroorganizmanın çarpma hızı, toplanan mikroorganizmanın yüzey yoğunluğu gibi parametreler, koloni oluşumunun gölgelenmesine yol açabilecek parametrelerdir [23].

Bir hava toplayıcı sisteminin performansı fiziksel ve biyolojik bileşenlere bağlıdır. Emiş verimliliği ve partikül toplama verimliliği bir hava toplayıcı sisteminin performansını etkileyen fiziksel parametrelerdir. Hava toplayıcının emiş verimliliği, havadaki farklı şekil, boyut ve ya yoğunluktaki partikülleri toplayabilme yeteneğidir. Toplama verimliliği havadaki partikülleri besiyeri ortamına taşıyabilme yeteneğidir. Hava toplayıcı sisteminin biyolojik bileşeni toplama işlemi boyunca mikroorganizmaların canlılığını koruyabilme yeteneğidir. Örnekleme stresi toplanan mikroorganizmalara zarar verir. Toplama süresi bioaerosol örneğini alma yeteneğini etkiler. Toplama süresinin çok uzun olması durumunda ya örnekleme stresine yol açar ya da sayım yapılmasını engelleyecek şekilde çok fazla partikülün toplanmasına sebep olur. Kısa ve tek bir izleme sonucunda ise bioaerosollerin değişkenliğinden dolayı daha az değer alınabilir.

Bu sebepten hava toplama işlemi yinelenerek alınan sonuçların ortalamasının alınması daha uygun olacaktır [22,24].

### 2.3.4.2.1. Impaction (Çarpıtırma) Yöntemi

Impaction yöntemi, örnekleme cihazı ile belirlenen sürede, belirlenen hacimdeki hava çekilerek, besiyeri ortamına çarpıtılması sağlanır. Şekil 2.4'de Impaction yönteminin çalışma prensibi gösterilmiştir. Impaction yöntemi, inert olan partikülleri hava akımından ayırmak için kullanılır. Impactorler, mikroorganizmaları içlerinde besiyeri bulunan petri kutularında toplarlar. Toplanan mikroorganizmaların gelişmesi istenilen düzeyde olması için mikroorganizmaya uygun besiyerinin seçilmiş olması önemlidir. Impaction yönteminde toplama aşamasında hava akımı etkisiyle yön değiştiren partiküller, büyük oranda eylemsizlik kuvvetiyle katı besiyeri üzerine çaptırılır [12,13].

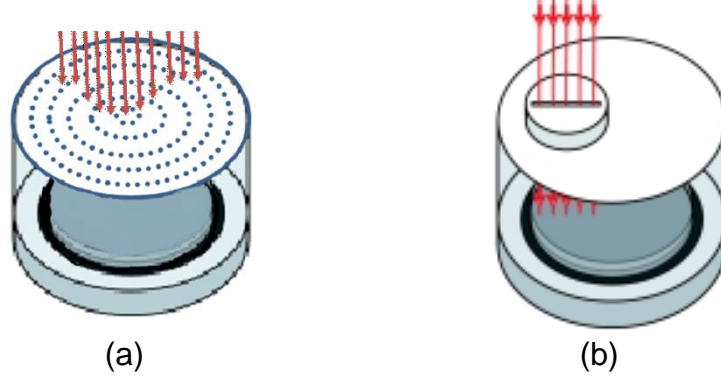


Şekil 2.4. Impaction Yöntemi

Sieve ve slit olmak üzere iki çeşit impactor tarzı vardır. Sieve tarzı impactorlar elek şeklinde, içinde partiküllerin geçebileceği deliklerden oluşur (Şekil 2.5.a) ve aşağı inildikçe deliklerin çapı küçülür. Sieve impactorler, havayı belirli bir hızda emerek üzerindeki çok sayıdaki delik bulunan levhadan geçen hava, plaka içerisinde agar emdirilmiş petri kutularına çaptırılır. Sieve tarzındaki impactorlerin tek, çift, altı ya da



sekiz evreden oluşan modelleri vardır. Slit tarzı impactorlar Şekil 2.5.b'da görüldüğü gibi hava girişi yarık şeklinde, üzerine belirli boyutta petri kutularının konulduğu dönen bir disk bulunur. Etkili partikül toplayıcılar olup, elekli tip cihazlara göre daha hızlı örnekleme yapabilir, ancak partikülleri ayıramaz. Sporların yüksek konsantrasyonda bulunmaları durumunda daha etkilidir [12,13, 24].



Şekil 2.5. Impaction Yöntemi, a) Sieve impactor b) Slit impactor

Impaction yöntemi, havada bulunan bioaerosol sayısının düşük olduğu düşünülen zamanlarda kullanılan, diğer tespit etme metotlarına göre daha yüksek oranda tespiti sağlayan bir yöntemdir. Örnek alımı sonrasında ilave bir işleme gerek yoktur. Cihaz yüksek verimli örnek alma özelliğine sahiptir ve uygulanması oldukça kolaydır. Ancak örnekleme esnasında çarptırılan hava bir süre sonra agarın yüzeyinin kurummasına neden olur. Bu durumda mikroorganizmanın tutulması tam olmayacak veya inkübasyon esnasında mikroorganizmanın gelişmesini sürdürmesi için gerekli suyun besiyerinden uzaklaşması söz konusu olacaktır. Bu durum da sonuçlar yanıltıcı olur [24].

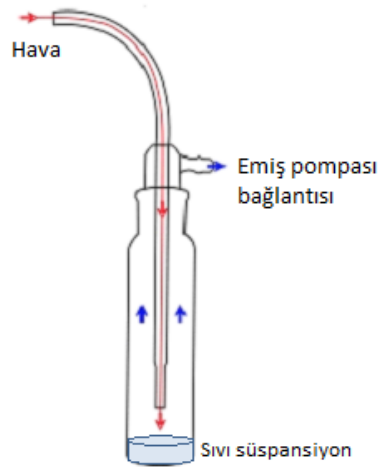
#### 2.3.4.2.2. Impinger Yöntemi

Bu yöntemde, test edilecek olan ortamın havası vakum edilerek Şekil 2.6'da gösterildiği gibi mikroorganizmaların sıvı besiyerine geçmesi sağlanır. Sıvı besiyeri agarlı besiyeri ile karıştırılarak, inkübe edilir. Impingerlerin yüksek emiş hızı ve düşük emiş hızıyla çalışan modelleri vardır. Düşük hızda çalışan impingerler 5 µm çapından daha küçük mikroorganizmaları toplamada etkin değildir. Yüksek hızla çalışan impingerler ise 1

$\mu\text{m}$ 'den daha büyük mikroorganizmaları toplayabilir ancak, vegetatif hücreler yüksek hava akımdan dolayı bölünerek, çoğalabilir. Bu da daha yüksek sayıda koloni miktarı sayılmasına neden olabilir [13,15, 22].

Toz partiküllerine tutunmuş olan birden fazla sayıda mikroorganizma olabilir. Bu toz partikülleri üzerindeki mikroorganizmalar, impaction ya da filtrasyon yönteminde tek koloni oluştururken, havanın su ortamından geçirilmesi sırasında yüksek hızda hava akımının etkisiyle her biri ayrı koloni oluşturabilir ve tahmin edilenin üstünde mikroorganizma sayısı ortaya çıkabilir. Ucuz bir yöntem olmasına karşın emiş hızına bağlı olarak partiküllerin canlılığında kayıplar meydana gelebilir ya da uzayan toplama zamanları toplama stresine yol açarak canlı mikroorganizmaların ölümüne yol açabilir. Ayrıca her örnek alım öncesinde kullanılan cam malzemenin steril olması gerekmektedir. Impinger yöntemi, özellikle yüksek oranda kontamine olduğu düşünülen ortamlardan alınacak örnekler için önerilmektedir. Klinik dışı örnekler için uygundur [26].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda  $0,1-10 \mu\text{m}$  boyutlarında canlı ve cansız biyoaerosollerin toplanması için impinger yönteminin performansının iyi olduğu belgelenmiş ve impinger yöntemi bioerosol örneklemede yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. İdeal çarpıtıcı parçacıkların  $> 0,1 \mu\text{m}$  yüksek toplama verimi göstermiştir [27,28,29].

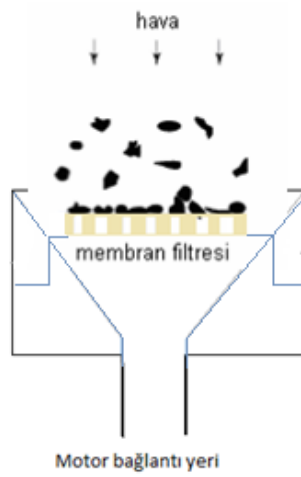


Şekil 2.6. Impinger Yöntemi

### **2.3.4.2.3. Filtrasyon Yöntemi**

Filtrasyon yöntemi, vakum etkisiyle havanın özel bir filtre üzerinden geçirilmesi ve mikroorganizmanın bu filtre üzerinde tutulması prensibine dayanır. Şekil 2.7’de filtrasyon yöntemi gösterilmiştir. Mikroorganizmanın üzerinde tutulduğu filtre, besiyeri üzerine yerleştirilerek inkübe edilir ve oluşan koloniler sayılır. Çoğunlukla tek bir filtre kullanılır ve tüm partiküller daha küçük parçacıklara bölünmeden toplanmış olur. Filtrasyon aparatı selüloz lif, sodyum alginat, fiber glass ve jelatin membran filtresinden oluşabilir. Jelatin membran filtre, havanın geçişi esnasında filtrenin kurummasını engelleyecek tarzda ve canlı mikroorganizmanın kuruyarak inaktive hale gelmesine engel olacak şekilde dizayn edilmiştir. Dolayısıyla farklı iklim koşullarında ve emiş miktarlarında standart sonuç veren bir yöntemdir. Örnekleme sırasında vegetatif hücreler dehidre hale gelip ölebilir. Düşük akım hızı ve küçük miktarlarda örnek alınması uygundur. Yöntemin diğer önemli avantajları da test edilen havanın hacminin ayarlanabilmesi ve havada bulunan tüm mikroorganizmanın tespit edilebilmesidir. Filtrasyon yöntemi özellikle polenleri, mantar sporlarını ve tozları toplamada daha çok tercih edilmektedir [15,26].

Atık işleme ortamlarında biyoaerosolleri yakalamak için Impaction örnekleme yöntemi bir alternatif olarak membran filtrasyon örnekleme yöntemi kullanımına ilgi artmıştır. Alman standartları son yıllarda jelatin ve polikarbonat zar filtreler kullanılarak havada küfleri örnekleymek için geliştirilmiştir. Bu standartlar halen geliştirme aşamasındadır. Standardizasyon hava kalitesi standartları için yeni Uluslararası Örgütü için temel (ISO 16000-17) olarak kabul edilmiştir. Kompost tesislerinde bioaerosol çalışmalarında membran filtrasyonu daha geniş kullanımına ve bu ortamda bu kâğıt bioaerosol boyutu özelliklerine sahip anlaşılır kılınmıştır [30].



Şekil 2.7. Filtrasyon yöntemi

#### 2.3.4.2.4. Merkezkaç Kuvveti(Santrifüj) Yöntemi

Merkezkaç kuvveti yöntemi, havada bulunan mikroorganizmaların merkezkaç kuvveti yaratılarak agar bulunan yüzeylere doğru çekilmesine dayalı bir yöntemdir. Bu yöntemde, havadan mikroorganizma toplayan agar stripli bir fan kullanılır. Aerosoller bükülebilir dairesel yolda hızlı hava akımı etkisiyle geçer ve oluşan merkezkaç kuvvetinin etkisiyle partiküllerin agar emdirilmiş yüzeye çarpmasına neden olur. Örnekleme sonunda agar strip çıkartılarak inkübe edilir ve oluşan koloniler hesaplanır. Yöntemin uygulanması kolaydır ve impaction metoduna göre örnekleme esnasında yüksek hızda hava akımı oluşmadığından mikroorganizmalar daha az stres altındadır. Bu tip örneklemede, yüksek hacimliler gelişirken ufak partiküller yapışmaz. Bununla birlikte bu cihazın yapısı büyük parçacıklar için seçicilik göstermesinden dolayı, diğer cihazlara oranla daha fazla sayıda mikroorganizma sayılmasına neden olur [31,32,33].

#### 2.3.4.2.5. Presipitasyon Temeline Dayalı Örnekleme Yöntemi

a) Termal Presipitasyon Yöntemi: Partiküllerin sıcak yüzeyden soğuk yüzeye doğru taşınmasını sağlayan "termoforezis" prensibine dayanır. Bu sebeple partiküllerin hareketi sıcaklıkdaki değişikliklere bağlıdır. Bu yöntem, özellikle partikül büyüklüğünün 1  $\mu\text{m}$ ' den daha küçük olduğu durumlarda partikül büyüklüğünün dağılımını saptamada kullanılmaktadır. Mikroorganizmalar camla kaplı sliplerde toplanır, sayıları ve partikül

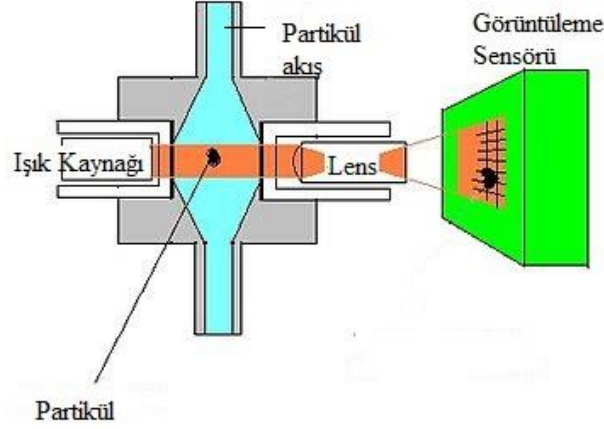
büyükükleri mikroskop yöntemiyle hesaplanır. Yöntem, çok sayıda ön ayarlama gerektirdiğinden ve hava örnekleme hızının düşük olmasından dolayı işletmelerde yaygın olarak kullanılmamaktadır [13,22,35].

b) Elektrostatik Presipitasyon Yöntemi: Mikroorganizma verilen elektrostatik sarj etkisiyle zıt yönde dönen disk içerisinde yakalanmaktadır. Bu yüzey cam ya da agar olabilir. Yöntemin hava örnekleme hızı ve örnek toplama etkinliği yüksek, hava akımına karşı direnci ise düşüktür. Yöntemin hava örnekleme esnasında ozon ve azot oksitin iyonize olmasıyla mikroorganizmalara karşı toksik etki oluşturabilme dezavantajı vardır. Ayrıca elektrostatik şarjın mikroorganizma canlılığı ve küme oluşturma üzerine etkisi fazla bilinmemektedir. Bu yöntem, aerosollerin tespit edilmesinde cihazın karmaşık yapıda olması ve dikkatli taşınmasının gerekmesinden dolayı çok nadir kullanılmaktadır [13,15, 36].

#### **2.4. Biyoaerosol Ölçüm Yöntemleri**

Patojenik mikroorganizmaların etkin biçimde analizleri birçok farklı kritere bağlıdır. Süre ve duyarlılık mikrobiyal test yöntemlerinin en önemli sınırlayıcı etkenleridir. Az sayıda patojenin diğer birçok patojen olmayan organizmalarla birlikte bulunduğu karmaşık biyolojik çevre koşullarında tayini için çok seçici yöntemlere gereksinim duyulmaktadır.

Havadaki partiküllerin sayı ve büyüküklerinin ölçülmesinde kullanılan partikül toplayıcılarla yapılan ölçümlerde çok küçük parçacıklar tespit edile bilinmektedir. Partikül toplayıcıların optik sayaçları lazer difraktometreleri, faz doppler sistemleri, duyarlılık deconvolüsyon sistemleri ve lazer partikül entegrasyon sistemlerinden oluşmaktadır. Diğer partikül tespitinde kullanılan yöntemler, elektriksel aerosol analizlerinde kullanılan elektriksel hareketlilik tekniklerini içermektedir. Differansiyel mobilite analizörler ve Lidar teknolojisi gibi diğer yöntemler de vardır [37,38]. Partikül ölçüm yöntemleri çok hızlı sonuç verir. Ancak partikül ölçümlerinde tespit edilen partiküllerin inert olup olmadığı saptanamamaktadır. Partikül ölçümü sonucu partikül boyutlarına göre sayım tespit edilen partikül bilgisi verilmektedir. Şekil 2.8'de partikül sayıcının çalışma prensibi gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Partikül sayıcının çalışma prensibi

Mikroorganizmaların tanısında kullanılan klasik yöntemler (kültür ve sayım, vb. gibi) ekonomiktir, oldukça fazla deneyim kazanılmıştır, ancak uzun zaman alır ve yoğun insan gücü gereksinim vardır.

Kültür tekniğinde, havadan alınan örneklerin sıvı ya da katı besiyerinde belirli süre ve sıcaklıkta inkübe edilmesi sonucunda gelişen koloniler hesaplanmasına dayanan bir yöntemdir. Kültür tekniğinde örnekleme için özel bir ekipmana ihtiyaç yoktur ve uygulanması kolaydır. Havada bulunan mikroorganizmalar canlılıklarını sürdürebilir fakat havanın toplanması esnasında stres altında olma gibi çeşitli nedenlerden dolayı koloni oluşturma yeteneklerini kaybetmiş olabilirler. Bu yüzden tahmin edilen düzeyin altında koloni sayısı bulunur ve bu da havada bulunan mikroorganizma sayısının kob olarak gerçek değerini ifade edemez [39, 40, 41, 46].

Floresans ve Mikroskop Teknikleri kullanılarak toplanan havadaki mikroorganizma sayısı ve mikroorganizmaların morfolojik görünümü ile ilgili bilgiler alınabilir. Mikroskopik bakıya dayanan yöntemler hızlı ve kolaydır. Havada bulunan mikroorganizmaların otomatik sayaç ile sayılması ve boyutlarının ölçülmesinde analiz süresini azaltır [42]. Floresan mikroskop yöntemi, filtre üzerinde bulunan ya da impinger sıvıları içerisinde bulunan mikroorganizmaların hesaplamalarında uygulanabilir. Faz kontrast mikroskop ise özellikle bakteriyal endosporlar parlak görünümde olduklarından bunları hesaplamada kullanılır. Flurokromojenler; protein, koenzim ve nükleikasit gibi

hücrelere yapışarak uygun dalgaboylu ışığa maruz kaldıklarında flüoresans ışımaya göstermektedir. Ayrıca UV floresans içeren aerosol sayacılar, biyolojik partiküllerin birçok organik ve inorganik partiküllerden ayrılmasını sağlar [43,46].

ATP biyoluminesans yöntemi, enzimatik reaksiyonlar sonucu açığa çıkan ışığın şiddetinin ölçülmesi şeklinde tanımlanabilir. Bu yöntem uzun yıllardır bilinmekle birlikte zayıf özgünlük ve ajan stabilitesi, yüksek maliyet gibi nedenlerle yaygın kullanım olanağı bulamamıştır. Son yıllarda oldukça kararlı ışık sinyalleri veren kimyasal ajanların kullanılması ve maliyetlerin düşürülmesi yöntemin kullanılabilirliğinin artmasına önemli katkı sağlamıştır. ATP, bütün yaşayan hücrelerde bulunan ve enerji transfer reaksiyonlarında rol oynayan önemli bir yapı taşıdır. Ortamda ATP'nin bulunması, biyokitlemin varlığını ortaya koymaktadır. Yöntemin ilkesi; ATP'nin, lüsiferin-lüsiferaz enzimi ile reaksiyona girerek biyoluminesans ışık vermesi ve açığa çıkan bu ışığın, lüminometre ile ölçülmesi esasına dayanmaktadır [44,45,46].

Patojen mikroorganizmaların tayininde kullanılan, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi gibi teknikler, pahalı donanım gerektirmekte ve ancak gelişmiş laboratuvarlarda kullanılabilir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi diğer bazı yöntemler de bazı tür patojenik mikroorganizmaların tayininde kullanılmaktadır. Havadaki mikroorganizmaların düşük dozdaki konsantrasyonlarının belirlenmesinde PCR tekniği kullanılabilir. Mikroorganizmaların ortaya çıkarılması ve tanımlanmasında gerekli olan mikroorganizma gelişimini ortadan kaldırmak suretiyle PCR, DNA'nın hedef nükleik asit sekansını belirler. PCR analiz yöntemi, hücrelerin metabolik durumları göz önüne alınmaksızın DNA saptanmasına izin verir. Bu tekniğin hassaslığı ve daha az zamanda yapılabilmesi az sayıda olan hedef mikroorganizmanın belirlenmesi için yapılan aerobiolojik monitorizasyon için uygundur. PCR kaynaklı teknikler, geçmişleriyle birlikte diğer mikroorganizma grup ya da tür seviyesinde saptama ve identifikasyona olanak verir. Bu tekniğin spesifitesi, duyarlılığı ve uygulama zamanını azaltması, örnek içerisindeki az miktardaki hedef mikroorganizmanın saptanması için uygundur. Ancak PCR için analiz öncesi örnek hazırlanması gerekmesi, reaktiflerin pahalı olması, uzman personele ihtiyaç duyması ve tek bir örnekten çoklu analizin zor olması gibi dezavantajları vardır. [47].

Özellikle son yıllarda hız kazanan nanoteknoloji alanında yapılan araştırmalar ile desteklenen tanı sistemleri, moleküler düzeye hedef maddenin hızlı, doğru ve duyarlı tanısına olanak sağlamaktadır [48,49]. Biyo-algılayıcı sistemler (biyosensörler), bir biyolojik tanıyıcı eleman (prob) bulunduran ve bir fizikokimyasal çevirici ile birleştirilmiş analiz sistemidir. Bir biyosensörün amacı, bir veya bir grup hedef molekülün miktarı ile orantılı olarak sürekli sayısal elektrik sinyali üretmektir. Çoklu analiz dizisi (array) teknolojileri birden fazla hedef molekülün aynı anda işleme tabi tutulabildiği ve buna bağlı olarak çoklu tanının mümkün olduğu, daha kısa sürede cevap verebilme yeteneğine sahip bir teknoloji dalıdır. Array teknolojileri ile çok sayıda hedef molekülün biyolojik tanıyıcı moleküller (problar) kullanılarak tanısı mümkün olmaktadır. Array platformlarına yerleştirilen (immobilize edilen) prob molekülleri ile hedef moleküllerinin etkileşmesi genellikle optikçe aktif ajanlar (florasan boyalar, vb.) teknolojileri birden fazla hedef molekülün aynı anda işleme tabi tutulabildiği ve buna bağlı olarak çoklu tanının mümkün olduğu, daha kısa sürede cevap verebilme yeteneğine sahip bir teknoloji dalıdır. Tüm tanı sistemlerinde olduğu gibi array teknolojisinde de hedef patojenik mikroorganizmayı tanımak için biyospesifik ligandlar kullanılmaktadır. Doğrudan tanı için en yaygın olarak kullanılan yöntem monoklonal antikordır. Bunlar patojen mikroorganizmaları yüzeylerindeki antijenik bölgelerden çok spesifik olarak tanır. Tanı antikor ile antijenin etkileşmesinin farklı yöntemlerle algılanması şeklinde gerçekteşir [50,51]. Platform üzerindeki tanıyıcı molekül-hedef molekül etkileşmesi, çoğunlukla hedef molekülün optikçe aktif olan floresan boya kullanılarak işaretlenmesi (etiketlenmesi) ve optik özelliklerdeki değişimlerin izlenmesi ile gerçekteşirilmektedir. Son yıllarda etiketsiz ölçüm yapılabilecek optik cihazların (SPR, Raman Spektroskopisi, SERS, NIR, vb.) özellikle taşınabilir ve düşük maliyetli olanlarının array teknolojilerine uygulanması üzerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır [52,53].

Optik sistemler birçok değişik spektroskopik teknik (lüminesans, adsorpsiyon, floresans v.b.) kullanarak birçok farklı spektrokimyasal özelliği (genlik, enerji, polarizasyon, bozunma zamanı ve/veya faz) kaydetmesinden dolayı en fazla alt gruba sahip biyosensörlerdir.

Yüzey Plasmon Rezonans (Surface Plasmon Resonance, SPR) sensör yüzeyinde antijen-antikor ya da nükleik asit eşleşmeleri gibi çeşitli nedenlerden oluşan biyolojik



filmlerden meydana gelen kırınım indeksindeki (refractive index,RI) küçük değişiklikleri oldukça hassas bir şekilde ölçebilen bir analitik ölçüm cihazıdır. SPR etiketsiz çalışan bir yöntem olduğu için tayin edilecek biyomolekülün herhangi bir modifikasyona ihtiyacı olmamaktadır. Ayrıca yüksek hassasiyette, gerçek zamanda biyokimyasal etkileşimleri ölçebilmektedir [53,54,55,56].

Elipsometre, oldukça düşük kalınlıklara sahip olan transparan ince filmlerin kompleks kırınım indisi veya dielektrik fonksiyonu gibi çeşitli dielektrik özelliklerinin incelenmesini sağlayan çok yönlü ve güçlü bir teknik olarak isminden söz ettirmektedir. Elipsometre, polarize monokromatik ışık düzlem dalgasının belirli bir açıda bir yüzeyden yansması ile elde edilen polarizasyon değişiminin ölçülmesine dayanır [57,58].

Raman Spektroskopisi inorganik, organik ve biyolojik sistemlerin nitel ve nicel analizinde kullanılır. Bir numunenin GB veya yakın-IR monokromatik ışıktan meydana gelen güçlü bir lazer kaynağıyla ışınlanmasıyla saçılan ışının belirli bir açıdan ölçümüne dayanır. Moleküllerin şiddetli bir monokromatik ışın demeti ile etkileşmesi esnasında ışık absorpsiyonu olayı meydana gelmiyorsa ışık saçılması olayı meydana gelir. Işık saçılması sırasında saçılan ışığın büyük bir kısmının enerjisi madde ile etkileşen ışığın enerjisine eşit olur ve bu tür elastik saçılma olayına Rayleigh saçılması denir. Elastik saçılma olayının yanı sıra saçılan ışığın çok az bir kısmı elastik olmayan saçılma olayı ise Raman saçılması adını alır. Rayleigh saçılması olayında Raman saçılmasına göre  $10^4 - 10^5$  kez daha şiddetli bir saçılmış ışık oluşur [59].

Yüzey Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS) kısaca molekül kaynaklı Raman sinyal şiddetinin artırılması temeline dayanan bir tekniktir. Artırma faktörü  $10^{14}$ - $10^{15}$  kadardır. SERS'te sinyal şiddetinin artması ışık ile metal arasındaki elektromanyetik etkileşimler ve uyarılmalar ile meydana gelen plazmon rezonanslar sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu durumdan yararlanılabilmesi için moleküller ya metal yüzeye adsorplanmış olmalı ya da yüzeye çok yakın olmalıdır ( $10 \text{ nm} <$ ). Bu teknik halen diğer spektroskopik veya spektrometrik tekniklerden daha iyi analitik tekniktir [53,59].

Yakın infrared spektroskopisi (Near-Infrared Spectroscopy-NIR) için yatay ekseninde dalga sayısı yerine dalga boyu (nanometre veya mikrometre) kullanılır. Elektromanyetik



Havada bulunan partiküllerin boyutlandırılmasında kullanılan ölçü birimi mikrondur ( $\mu\text{m}$ ). Bir mikron, ölçü birimi olarak milimetrenin binde birine eşittir ( $1 \mu\text{m} = 0.001 \text{ mm}$ ). Çoğunlukla  $0,4\text{-}5 \mu\text{m}$  çapında olan bakteriler ve  $0,003\text{-}0,06 \mu\text{m}$  çapında olan virüsler kapalı ortamda bulunan canlılar için büyük tehlike taşırlar. Bioaerosol olarak da adlandırılan bu mikrobiyal etkenler çeşitli yollarla canlılara bulaşabilmekte ve böylece enfeksiyon zincirini başlatmaktadır. Günlük yaşamda insanların soluduğu tozların tane büyüklüğü  $60 \mu\text{m}$ 'nin altındadır. Havada bulunan  $5 \mu\text{m}$ 'nin üstündeki partiküller üst solunum yolları tarafından tutulur, bu değer altındaki partiküller ise solunum yoluyla akciğerlerdeki alveollere kadar girmektedir..

İç ortamlarda bulunan partiküller ve mikroorganizmaların sebepleri çeşitlidir. Bu partiküller, havalandırma ile dışarıdan içeriye girebildiği gibi, iç ortamda bulunan eşyalardan, yapı malzemelerinden ve özellikle insanlardan kaynaklanmaktadır. Çizelge 2.1'de bir insanın yaptığı günlük hareketlere bağlı olarak meydana gelen partikül yayılımı görülmektedir.

Çizelge 2.1. İnsanın yaptığı hareketlere bağlı olarak oluşturduğu partikül yayılımı

Yapılan Hareket Türü	Dakikadaki partikül yayılımı ( $0.3 \mu\text{m}$ )
Hareketsiz durma	100.000 adet
Ayak, baş, el ve kolu hafifçe oynatma	500.000 adet
Vücut, kol ve ayakları oynatma	1.000.000 adet
Oturmak, kalkmak	1.000.000 adet
Yavaş yürümek	5.000.000 adet
Hızlı yürümek	7.500.000 adet
Koşmak	10.000.000 adet

İnsanlardan yayılan partiküllerin 1000'de biri, üreyen mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Örneğin; hapşırarak bir kişi 1.000.000 partikül yaymakta, bunun 40.000'i mikroorganizma içermektedir, aynı şekilde yüksek ses ile 100 kelime konuşan bir kişiden 250 partikül yayılmaktadır ve bunun 40 tanesi mikroorganizma içermektedir [63].

### **2.5.1. Temiz Odalar**

Sağlık alanında mikrobiyal etkenleri kontrol edebilmek için temiz odalar oluşturulmaktadır. Temiz oda; partikül ve mikroorganizma sayısının, sıcaklık, nem oranı, taze hava miktarı, ortam hava basıncı, hava hareketleri vb. parametrelerin kontrol altında tutulduğu kapalı ortamlardır. Hastanelerde bulunan ameliyathaneler, yoğun bakım üniteleri, genetik ve tıbbi laboratuvarlar sterilizasyon, vb. bölümler temiz oda grubuna girmektedir[63].

Temiz oda kurulumu ve izleme gerçekten sadece ilaç, kozmetik ve gıda sektörlerinde değil aynı zamanda sağlık kuruluşları ve biyoteknolojide de ürünün toplu kontaminasyonu ve insan kontaminasyonu sonrası büyük mali ve sağlık sonuçlar doğurmaması için gereklidir. Bu ortamlarda (su, yüzey ve hava) biyolojik kirlilik kontrolü, sadece üretim süreçleri ve kalite kontrol güvenliğini için değil, aynı zamanda personel güvenliğini sağlamak için gereklidir.

### **2.5.2. Temiz Odaların Sınıflandırılmasına İlişkin Standartlar**

Temiz odaların sınıflandırılması ile ilgili farklı ülkeler tarafından hazırlanmış standartlar bulunmaktadır.

#### **2.5.2.1. U.S. Federal Standart 209**

1963 yılında çıkarılan "U.S. Federal Standart 209" standardı temiz odalarla ilgili çıkarılan standardın temelini oluşturur. 1988 yılında 209 D standardı çıkarılmış olup 1992 yılında ilerleyen teknoloji ile ultra-temiz odaların standartlarının tanımlanması için 209 E standardı çıkarılmıştır. Bu standartta metrik (SI) birim sisteminde tanımlı genişletirmiştir. Çizelge 2.2'de U.S.209 D ve U.S.209 E standartlarına göre temiz oda

sınıfları gösterilmiştir. İç ortam havasında tespit edilen parçacığın çapı ne kadar küçük ve konsantrasyonu ne kadar az olursa, temiz odanın standardı o derece yüksek olur. Ameliyathane, yoğun bakım ünitesi, laboratuvarlar veya sağlık açısından temiz olması zorunlu olan odaların ölçüm metotlarında, 0.5 µm çapındaki tanecikler dikkate alınır ve birim hacimde (m<sup>3</sup> veya ft<sup>3</sup>) bulunan parçacık sayısı temiz odanın standardını belirlemektedir [64]. US Federal Standard 209E 2001 tarihinde GSA (U.S. General Services Administration) tarafından yürürlükten kaldırılmıştır. Ancak birçok sektörde halen kabul görmektedir.

Çizelge 2.2. U.S.209 D ve U.S.209 E standartlarına göre temiz oda sınıfları

Tablo 2.												
U.S. 209 D STANDARDA GÖRE TEMİZ ODA KLASLARI												
Klas	0.1 µm		0.2 µm		0.3 µm		0.5 µm		5.0 µm			
	ft <sup>3</sup>	m <sup>3</sup>	ft <sup>3</sup>	m <sup>3</sup>	ft <sup>3</sup>	m <sup>3</sup>	ft <sup>3</sup>	m <sup>3</sup>	ft <sup>3</sup>	m <sup>3</sup>		
1	35	1.240	7.5	265	3	106	1	35				
10	350	12.400	75	2.650	30	1.060	10	353				
100			750	26.500	300	10.600	100	3.530				
1.000							1.000	35.300	7	247		
10.000							10.000	353.000	70	2.470		
100.000							100.000	3.530.000	700	24.700		
U.S. 209 E STANDARDA GÖRE TEMİZ ODA KLASLARI												
SI	Klas	İngiliz	0.1 µm		0.2 µm		0.3 µm		0.5 µm		5.0 µm	
			m <sup>2</sup>	ft <sup>2</sup>	m <sup>2</sup>	ft <sup>2</sup>	m <sup>2</sup>	ft <sup>2</sup>	m <sup>2</sup>	ft <sup>2</sup>	m <sup>2</sup>	ft <sup>2</sup>
M 1			350	9.91	75.7	2.14	30.9	0.875	10	0.283		
M 1.5	1		1.240	35	265	7.5	106	3.00	35	1.00		
M 2			3.500	99.1	757	2.14	309	8.75	100	2.83		
M 2.5	10		12.400	350	2.650	75	1.060	30	353	10.0		
M 3			35.000	991	7.570	2.14	3.090	87.5	1.000	28.3		
M 3.5	100				26.500	750	10.600	300	3.530	100		
M 4					75.700	2.140	30.900	87.5	10.000	283		
M 4.5	1.000								35.300	1.000	247	7
M 5									100.000	2.830	618	18
M 5.5	10.000								353.000	10.000	2.470	70
M 6									1.000.000	28.300	6.180	175
M 6.5	100.000								3.530.000	100.000	24.700	700
M 7									10.000.000	283.000	61.800	1.750

US 209 E standartında Çizelge 2.2'de aşağıdaki eşitliğe göre temiz oda sınıfları ve partikül çaplarına bağlı olarak kabul edilebilir konsantrasyon düzeyleri belirlenmiştir

$$\text{Partikül/m}^3 = 10^M \times (0.5/d)^{2.2}$$

Burada;

M =SI birimine göre sınıflandırma sayısı,

d = mikrometre olarak değerlendirmeye alınan partikül boyutu.

$$\text{Partikül/ft}^3 = N_c \times (0.5/d)^{2.2}$$

Burada;

N<sub>c</sub> =İngiliz birimine göre sınıflandırma sayısı,

d = mikrometre olarak değerlendirmeye alınan partikül boyutu.

### **2.5.2.2. TS 11605 EN ISO 14644 Standardı**

TS 11605 EN ISO 14644 Standardı, Temiz odalar ve bu odalarla birlikte kontrol edilen ortamlar ile ilgilidir. Standardın temelini U.S 209E standardı oluşturmaktadır. 1999 yılında standardın ilk bölümü olan “Hava temizliğinin kontrol edilmesi” dokümanı yayınlanmıştır. Bu standart, CEN tarafından kabul edilen EN ISO 14644-1 (1999) standardı esas alınarak, TSE Sağlık Hazırlık Grubu tarafından TS 11605 (1995)'in revizyonu olarak hazırlanmış ve TSE Teknik Kurulu'nun 10 Mayıs 2001 tarihli toplantısında Türk Standardı olarak kabul edilerek yayımına karar verilmiştir.

Standart toplam 9 Bölümden oluşmaktadır;

ISO 14644-1: Bölüm 1: Hava Temizliğinin Sınıflandırılması (Classification of air cleanliness) [63].

ISO 14644-2: Bölüm 2: ISO 14644-1 ile sürekli uygunluğunu göstermek için test ve görüntüleme için spesifikasyonlar (Specifications for testing and monitoring to prove continued compliance with ISO 14644-1) [66]

ISO 14644-3: Bölüm 3-Test Metodları (Test Methods) [65].

ISO 14644-4: Bölüm 4: Tasarım, yapı ve ilk çalıştırma (Design, Construction, and Start-up)

ISO 14644-5: Bölüm 5: İşletmeler (Operations)

ISO 14644-6: Bölüm 6: Terimler ve tarifler (Vocabulary)

ISO 14644-7: Bölüm 7: Ayırıcı cihazlar (temiz hava davlumbazları, eldivenli kutular, yalıtıcılar ve mini ortamlar) [Separative devices (clean air hoods, gloveboxes, isolators and minienvironments)]

ISO 14644-8: Bölüm 8: Hava kaynaklı moleküler kirlenmenin sınıflandırılması (Classification of airborne molecular contamination) [66].

ISO 14644-9: Bölüm 9: Yüzeydeki partikül temizliğinin sınıflandırılması ( Classification of surface particle cleanliness ) [69].

ISO 14644-1: Bölüm 1: Hava Temizliğinin Sınıflandırılmasında; hava ile taşınan partiküllerin temizlik sınıflandırılması, bir N numarası ile tasarlanmalıdır. Her bir partikülün boyutu D için müsaade edilen en yüksek partikül konsantrasyonu  $C_n$  aşağıdaki eşitlikten belirlenebilir:

$$C_n = 10^N \times (0.1/D)^{2.08}$$

$C_n$ : Değerlendirilen partikül boyutuna eşit veya daha büyük hava ile taşınan partiküllerin müsaade edilen en yüksek konsantrasyonudur (partikül ( $m^3$  hava))

N: 9'u aşmayan ISO sınıflandırma sayısıdır. Orta değerdeki ISO sınıflandırma sayıları müsaade edilen artış olan 0,1 aralıkları ile belirlenebilir.

D: Değerlendirmeye alınan partikül boyutudur, mikrometre cinsindedir.

0,1 Sabit sayıdır boyutlar mikrometre cinsinden.

Çizelge 2.3'de yukarıdaki eşitliğe göre sınıflar ve partikül çaplarına bağlı olarak kabul edilebilir konsantrasyon düzeyleri belirlenmiştir[65].

Çizelge 2.3. Temiz odalar ve temiz bölgelerin seçilmiş, hava ile taşınan partikülden temizliğinin sınıfları

ISO Sınıflandırma Sayısı (N)	Değerlendirmeye alınan boyutlardan daha büyük ve eşit partiküller için enyüksek konsantrasyon düzeyleri (partikül/m <sup>3</sup> hava)					
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
ISO Sınıf 1	10	2				
ISO Sınıf 2	100	24	10	4		
ISO Sınıf 3	1000	237	102	35	8	
ISO Sınıf 4	10000	2370	1020	352	83	
ISO Sınıf 5	100000	23700	10200	3520	832	29
ISO Sınıf 6	1000000	237000	102000	35200	8320	239
ISO Sınıf 7				352000	83200	2390
ISO Sınıf 8				3520000	832000	23900
ISO Sınıf 9				35200000	8320000	239000

### 2.5.2.3. TS EN ISO 14698 (Temiz odalar ve birlikte kontrol edilen ortamlar - Biyokontaminasyon kontrolü )

TS EN ISO 14698 normunda inert ve biyolojik kontaminasyonu kabul edilebilir bir seviyeye getirebilmek için göre temiz oda sınıflandırmak ve görüntüleyebilmek için gerekli yöntemler ve tavsiyeler (özellikle aerobiokontaminasyon için) içerir.

TS EN ISO 14698 normu, havada kontaminasyon kontrolünü tanımlayan TS EN ISO 14644 normunun (Temiz odalar ve bu odalarla birlikte kontrol edilen ortamlar) farklı olarak özellikle etkili bir kontrol planının nasıl yapılacağı ve mikrobiyal kontaminasyonla ilgilendir. Bulunulan çevrede aerobiokontaminasyon kontrollünü görüntülemek ve ölçmek için genel prensipleri ve global metodolojiyi açıklar. Ayrıca kritik alanlarda doğru görüntüleme sağlamak için gerekli metodları ve kontaminasyon durumunda uygun önleyici ve düzeltici çalışmaları belirler. İki bölümden oluşmakta olup;



TS EN ISO 14698-1 ( Temiz odalar ve birlikte kontrol edilen ortamlar - Biyokontaminasyon kontrolü - Bölüm 1: Genel prensipler ve yöntemler) bölümünde en iyi örnekleme sistemini seçmede örnekleme yapılacak alanın dikkate alınması gerektiği belirtirmiş ayrıca araştırılacak partikülün boyutu ve tipi, canlı partikülün duyarlılığı, kontrol edilen çevrenin yükü, örneklemenin yapılacağı risk bölgesindeki ortam koşulları, toplama adımları, örnekleme zamanı ve süresi, toplama doğruluğu, canlı partikülleri belirleme ve hesaplamada inkübasyon v.b. dikkate alınması gerektiği belirtirmiştir. (Temiz odalar ve birlikte kontrol edilen ortamlar - Biyokontaminasyon kontrolü - Bölüm 1: Genel prensipler ve yöntemler (ISO 14698-1:2003) Cleanrooms and associated controlled environments - Biocontamination control - Part 1: General principles and methods (ISO 14698-1:2003) [70].

TS EN ISO 14698 -2 ( Temiz odalar ve birlikte kontrol edilen ortamlar - Biyolojik kirlenme kontrolü - Bölüm 2: Biyolojik kirlenme verisinin değerlendirilmesi ve yorumlanması) bölümde 1. Bölümde belirtilen prensip ve yöntemler kapsamında yapılan ölçümlerden alınan verilerin değerlendirilmesi ve yorumlanmasında dikkat edilecek hususlar belirtirmiştir.( Temiz odalar ve birlikte kontrol edilen ortamlar - Biyokontaminasyon kontrolü - Bölüm 2: Değerlendirme ve biyokontaminasyon verilerinin yorumlanması (ISO 14698-2:2003) Cleanrooms and associated controlled environments - Biocontamination control - Part 2: Evaluation and interpretation of biocontamination data (ISO 14698-2:2003) [71].

Bu kapsamda hava örnekleme sistemlerinin yapılması ve uygulanmasında bu esasların alınması gerekmektedir.

### 3. SİSTEM TASARIMINDA MATERYAL VE METODLAR

#### 3.1. Mikrobiyal Hava Toplayıcı ve İnkübatör Sisteminin Tasarımı

Havada bakteri, mantar ve virüslerden oluşan çok çeşitli mikroorganizmalar bulunmaktadır. Havada bulunan mikroorganizmaların kaynakları, konsantrasyonları ve biyolojik etkinliği nedeniyle hastaneler, ilaç fabrikaları, laboratuvarlar veya buna benzer sağlık sektörlerinde ve gıda üretim yerlerinde enfeksiyon riski açısından çok önemlidir.

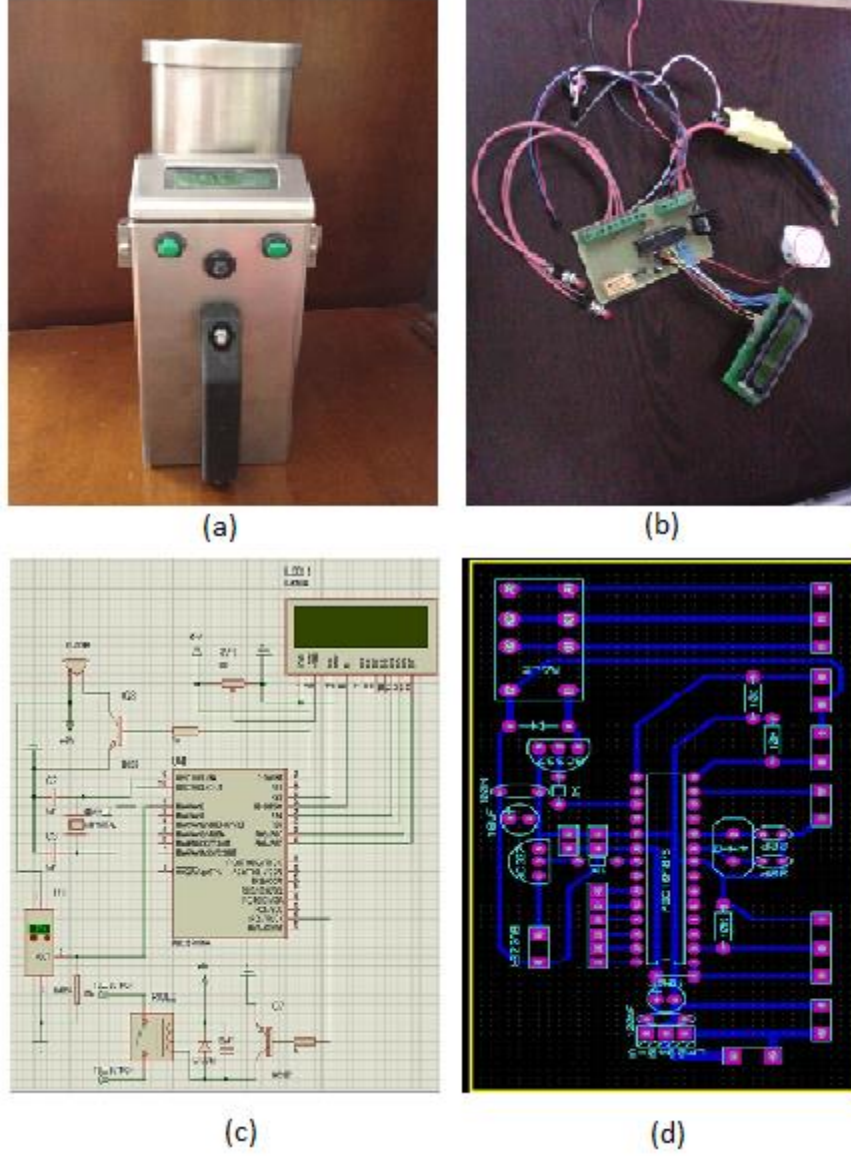
Günümüzde, mikroorganizmaların varlığı ve konsantrasyonu belirlemede kullanılan çeşitli hava örnekleme cihazları bulunmaktadır. Her bir metodun kendine özgü teknik özellikleri vardır ve örnekleme ortamına, kullanılacak analiz tekniklerine ve izlem amacına göre hangi yöntemin kullanılacağına karar vermek doğru sonuç için önemlidir.

Koloni oluşturan birim (kob) sayısı, üreyen canlı mikroorganizmayı tespit edebilen en önemli parametredir. Koloni sayım yöntemlerinden aktif hava örnekleme cihazlarından impaction yöntemi, havada bulunan bioaerosol sayısının düşük olduğu düşünülen zamanlarda kullanılan, diğer tespit etme yöntemlerine göre daha yüksek oranda tespiti sağlayan bir yöntemdir. Bu sebepten dolayı bu çalışmada impaction yöntemi ile çalışan portatif hava toplayıcı sistem tasarlanmıştır.

Bu çalışmanın ilk aşamasında impaction yöntemi ile havayı toplayan bir sistem tasarlanmıştır. Bu sistemde ortamdaki hava, standart örnekleme hacimlerinde ve nominal akış hızında besiyeri üzerine çarptırılmaktadır. Şekil 3.1'de bu sisteme ait görüntüler bulunmaktadır.

Toplama işlemi sonrası toplanan havanın çarptırıldığı besiyerinin inkübe edilmesi gerekliliğinden dolayı bu işlemde aynı ortamda yapma fikri doğmuştur. Bu sebepten dolayı ikinci aşamada toplayıcı sisteme sıcaklık kontrol sistemi eklenerek inkübasyon işleminin de aynı sistemde yapılması sağlanmıştır. Böylece petri kutu içerisindeki kültür ortamında toplanan bioaerosollerin aynı yerde inkübe edilebilinmektedir. Bu sisteme ek olarak toplama ve inkübasyon işlemini sürekli takip edebilmek için bir kamera sistemi eklenmiştir (Şekil 3.2). Kamera sistemi ile inkübasyon işlemi boyunca istenildiği zaman koloni sayımı yapılabilir. Tasarlanan portatif hava okuyucu ile hastanelerde,

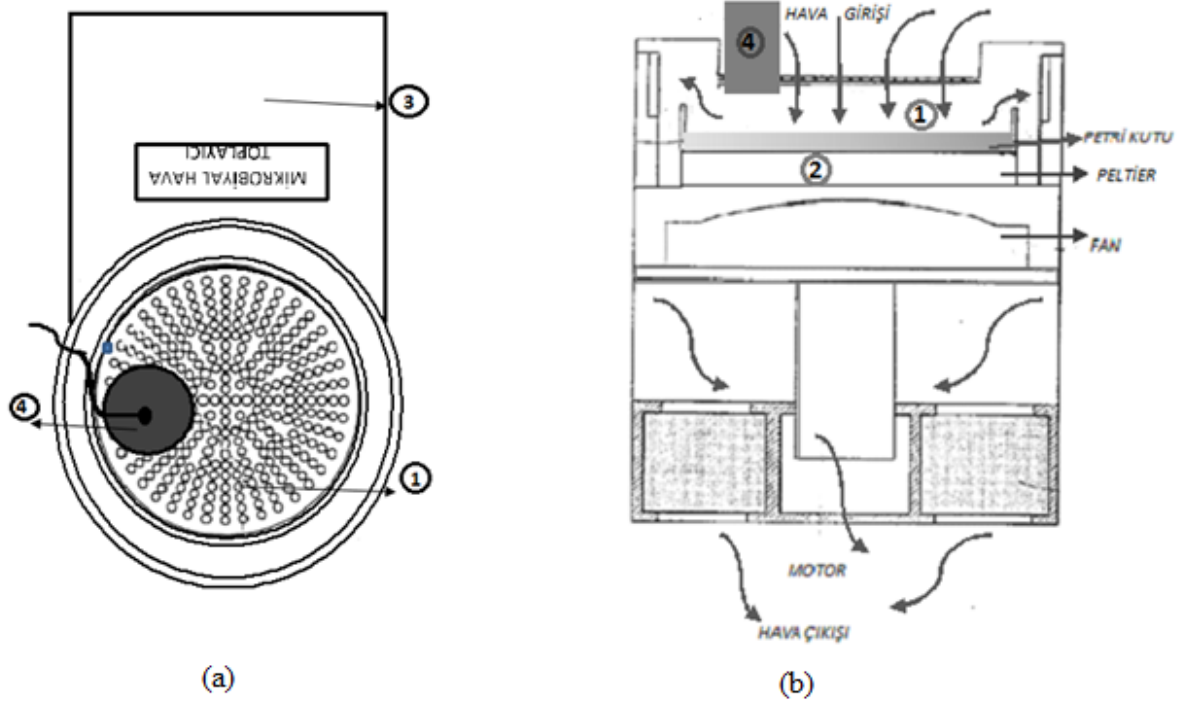
ilaç ve gıda fabrikalarında mikrobiyal kirlilik durumunun görüntülenmesi ve kontrolü sağlanacaktır.



Şekil 3.1. İlk tasarladığım mikrobiyal toplayıcı sisteme ait a) dış görünüm, b) elektronik devre kartı, c) devre şeması, d) baskı devresi

Şekil 3.2 (a)'da tasarlanan portatif hava toplayıcısı ve inkübatör sisteminin üstten görünümü, (b)'de iç görünümü gösterilmiştir. Mikrobiyal hava toplayıcı ve inkübatör

sistemi; toplama bölümü (1), inkübasyon bölümü (2), işletme bölümü (3) ve görüntüleme bölümü (4) olmak üzere 4 bölümden oluşmaktadır.



Şekil 3.2. Tasarlanan portatif hava toplama ve inkübatör sistemi; a) Üstten görünümü, b) İç görünümü

### 3.1.1. Toplama Bölümü

Toplama bölümünde silindirik şeklinde bir gövde ve üst kısmında ortamdaki havayı alarak havadaki mikroorganizmaları toplamak için küçük delikler bulunan ağızlık bölümü bulunmaktadır. Ağızlık ızgara şeklinde yapılmıştır. Ağızlık Şekil 3.2.b'de gösterildiği gibi bir ağızlık destekleyici bulunmaktadır. Ağızlık destekleyicisi hava sızıntısını engelleyici şekilde yapılmıştır.

Ağızlığın altında kültür ortamını içeren petri kutu bulunmaktadır. Mikrobiyal hava örnekleyici sisteminin çalıştırılması ile ortam havası belirli bir hızda aspire edilerek üzerindeki çok sayıdaki delik bulunan ağızlıktan geçer ve bu petri kutularına çaptırılır.

Petri kutunun alt kısmında ağızlıktaki deliklerden havayı aspire etmek için bir fan ve fanı çalıştırmak için motor bulunmaktadır. Fan-motor yardımıyla ağızlık üstündeki deliklerden hava aspire edilir.

Gerekli toplama verimliliğini sağlamak için kullanılan fan büyük boyutlarda ve ağırlıklarda olmaktadır. Kullanımı kolay portatif mikrobiyal hava toplayıcı yapabilmemiz için bunlar uygun değildir. Küçük bir fan kullandığımızda ise yüksek statik basınca ulaşamayız. Ağızlık bölümünde yeterli derecede hava akış hızı elde edebilmek için ağızlık açıklıkları toplayıcının düşük statik basınç altında çalışmasını sağlayacak şekilde yapılandırılmalıdır. Fakat bu düşük verimlikte bir toplama gösterir. Eğer emme ağızlığı yüksek toplama verimliliğine sahip yapılırsa, yeterli derecede hava akış hızı küçük fanların sağladığı yaklaşık 200 Pa'lık statik basınç ile gerçekleştirilmesi mümkün değildir. Bu durumda ağızlık bölümünde geçen hava akış hızı daha düşük olur ve yüksek toplama verimliliğine ulaşamaz. Ayrıca mikrobiyal hava toplayıcıda kullanacağımız fan motor eğer klasik tip (fırçalı tip) motor olması durumunda motorun fırça kısmında karbon partiküller ve yağlayıcı yağın zerreleri üreteceklerdir. Mikrobiyal hava toplayıcı sisteminin temiz odalarda kullanılacağından bu partiküllerin ortama bulaşması ile kirliliğin meydana gelmesi kaçınılmazdır. Tüm bu sebeplerden dolayı burada Fırçasız Doğru Akım motoru kullanılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kullanılan Fırçasız Doğru Akım Fan & Motoru

Fırçasız doğru akım motoru, komütasyon işlemini elektronik olarak yapan bir motor türüdür. Fırçalı doğru akım motorlarında, rotordaki sarımlara elektrik iletimi fırça-kollektör yapısı ile sağlanır. Kollektör düzeneği dilimli yapıda olup, rotor sarımlarından

geçen akımın yönü motor dönerken kendiliğinden değişir. Bu sistemin bakım gerektirmesi, fırçalarda zamanla aşınma meydana gelmesi ve kıvılcım oluşturmaları gibi dezavantajları bulunmaktadır.

Fırçasız doğru akım motorlarında fırça-kollektör düzeni bulunmamakta olup elektronik bir kontrolör ile bu işi yapmaktadır. Elektronik kontrolörde yüksek akımı anahtarlama işlevini yapan yarıiletken devre elemanları ve anahtarlama ile ilgili zamanlama görevini yapan mikrodenetleyici bulunur. Motorun dönüşünde herhangi bir aksama meydana gelmemesi için kontrolörün rotoru uygun bir hızda kontrol etmesi gerekir. Bunu yapabilmek için rotorun pozisyonu bilinmelidir ve bunun için Hall effect sensörleri kullanılması yaygındır.

Fırçasız doğru akım motorlarında iki farklı tasarım bulunmaktadır. Bunlardan birinde dönen rotor üzerine sürekli mıknatıslar monte edilmiştir ve stator bobinleri rotoru çevreleyecek şekilde yerleştirilmiştir. Elektronik komütasyon tekniği ile bobinlere uygun zamanlama ile enerji verildiğinde rotor dönmeye başlar. Farklı bir tasarımda ise stator sabit şekilde motorun merkezinde bulunur ve onun çevresindeki sürekli mıknatıslı rotor döner.

Fırçasız doğru akım motorları günümüzde, tıp elektroniği, askeri alanlar, robotik uygulamalar, bilgisayar teknolojileri vb. birçok endüstriyel uygulamalar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu motorlar, yüksek moment/akım ve yüksek moment/eylemsizlik oranına sahiptir [72].

Fırçasız doğru akım motorlarının avantaj ve dezavantajlarını aşağıdaki gibi sıralanabilir.

Fırçasız doğru akım motorların avantajları:

- Hız kontrol özelliğine sahiptir,
- Uyarma akımına gerek duymazlar,
- Küçük boyutta bile yüksek moment üretebilirler,
- Yüksek hızlarda çalıştırılabilir,

- Çalışma verimleri yüksektir,
- Fırçasız oldukları için ark oluşturmamaktadırlar ve fırçalı motorlardan çıkan karbon tozları bulunmaz,
- Güvenilir çalışma ortamı sağlarlar,
- Soğutulması kolaydır,
- Sessiz çalışırlar.

Fırçasız doğru akım motorlarının dezavantajları ise;

- Kontrol devreleri oldukça karmaşıktır,
- Hall effect sensörleri gibi pozisyon sensörlerine ihtiyaçları vardır,
- Fiyatları yüksektir [73,74].

Fırçasız DC motor işletme bölümünde bulunan PC tabanlı motor sürücü devresi (Elektronik hız kontrolörleri/ESC) ile kontrol işlemini yapacak olan mikro denetleyiciye (PIC16F876) uygulanır. PIC16F876 işlemcisi ile havanın toplanmasındaki akış hızı (m/sn) ve hava akış süresi ayarlanır.

### **3.1.2. İnkübasyon Bölümü**

Şekil 3.1.b'de görüldüğü gibi kültür ortamını içeren petri kutunun hemen altında peltier adı verilen termoelektrik modül bulunmaktadır. Peltier işletme bölümünde bulunan katı hal yarıiletken teknolojisi ile üretilen LM35 santigrad doğruluklu sıcaklık sensöründen elde edilen gerilim işaret uygunlaştırma işleminden geçtikten sonra, kontrol işlemini yapacak olan mikro denetleyiciye (PIC16F876) uygulanarak istenen sıcaklıkta sabit tutulmaktadır. Böylece kültür ortamı içeren petri kutunun inkübasyonu sağlanmaktadır.

Peltier Etkisi, Fransız fizikçi Jean Charles Athanasa Peltier tarafından 1834 yılında keşfedilmiştir. Peltier etkisi iki farklı yarıiletken malzemeden doğru akım geçirilmesi ile akımın hareket ettiği yönde ısı hareketinin meydana gelmesi prensibine dayanmaktadır. Bu olaya Peltier etkisi denilmektedir [75].

İki farkı yarıiletken malzemenin birleştirilmesi ile oluşturulan devreden doğru akım geçtiğinde, Jolue ısı ile birlikte birleşme noktasından ısı emilirken, diğer birleşme noktasından ısı açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan ısı miktarı, devreden geçirilen doğru akımla doğru orantılıdır;

$$Q_P = \pi I$$

$Q_P$ : Birim zamanda transfer edilen ısı miktarı ( W ),

I: Devre üzerinden geçen doğru akım ( A ),

$\pi$ : Peltier sabiti ( V ) dir.

$$\pi = \alpha T$$

$\alpha$ : Seebeck katsayısı ( V / °C),

T: Mutlak sıcaklık' dır.

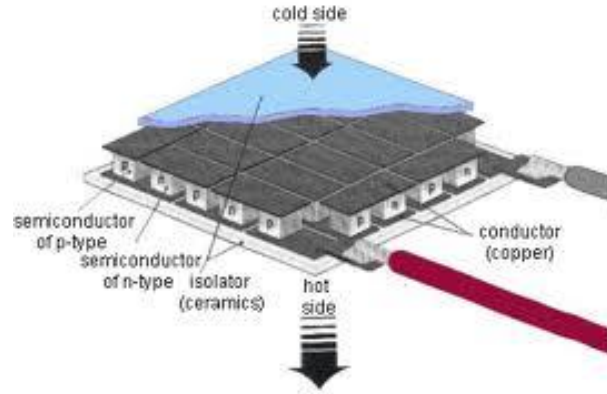
$$Q_P = \alpha T I$$

Dışarıdan verilen elektriksel güç ile elektronların sistem içinde hareket etmeleri için gerekli enerjiyi sağlanmakta ve hareketlenen elektronlar değişen enerji düzeyleri arasında ilerlerken ısı transfer etmekte, başka bir deyişle ısı taşımaktadır [76].

Dışarıdan verilen elektriksel güç arttırılırsa, hareketli elektron sayısı da artacak böylece soğuk yüzey ile sıcak yüzey arasındaki ısı transferide artacaktır. Eğer akım yönü ters çevrilirse, sıcak yüzey ile soğuk yüzey kendi arasında yer değiştirecektir [77].

Peltier elektriksel olarak seri bağlı, ısıl olarak paralel bağlı P ve N tipi yarı iletken malzemelerden meydana gelir. Pelter'in iç yapısı Şekil 3.4' de görülen modülün alt ve üst yüzeyi ısıl olarak iletken, elektriksel olarak yalıtkan özelliğe sahip seramik kaplıdır. Peltier yüksek soğutma/ısıtma verimliliğine sahiptir ve sessiz çalışır.





Şekil 3.4. Peltier'in iç yapısı

### 3.1.3. İşletme Bölümü

İşletme bölümünde PIC16F876 işlemcisi kullanılarak, toplama bölümünde bulunan ortam havasını belirli bir akış hızında ve belli sürede toplamak üzere kullanılan Fırçasız Doğru Akım motorunun kontrolü ve İnkübasyon bölümünde bulunan Peltier'in LM35 santigrad doğruluklu sıcaklık sensöründen elde edilen gerilim işaret uygunlaştırma işleminden geçtikten sonra belirlenen sıcaklıkta sabit tutulması sağlanmıştır. Ayrıca sistemde bulunan 4 buton ile akış hızı, süresi ve sıcaklık ayarlanmaktadır. 1. Buton menü, 2 ve 3. Butonlar akış hızını, akış süresini ve inkübasyon sıcaklığını yükseltme-azaltmak için ve 4. Buton menüye dönmek amaçlı kullanılmıştır. LM016L 2X16 LCD panel ile akış hızı, akış süresi ve sıcaklığın takibi sağlanmıştır. Tüm bu işlemleri yapmak için PIC 16F876 işlemcisine PICBASIC programlama dili kullanılarak hazırlanan program yüklenmiştir. İşletme Bölümü donanım (devre elemanları) ve yazılım olmak üzere iki bölümden incelenebilir.

### 3.1.4. Görüntüleme Bölümü

Mikrobiyal hava toplayıcı cihazımızda hava toplama işlemi ve inkübasyon işlemleri sırasında koloni oluşumunu takip edebilmek için ağızlık kısmına kamera yerleştirilmiştir. Sistem çalışma boyunca görüntüleri bilgisayar yardımı ile kayıt altına almaktadır.

### **3.2. Mikrobiyal Hava Toplayıcı ve İnkübatör Sisteminin Donanımı**

Mikrobiyal hava toplama sistemini yukarıda 4 bölüme ayırmıştık. Toplayıcı bölümü anlatırken burada kullandığımız Fırçasız Doğru Akım motorunu neden tercih ettiğimizden, avantaj ve dezavantajlarından bahsetmiştik. İnkübasyon bölümünde ise Peltier kullanmış ve bununla ilgili kısa bilgiler vermiştik.

Bu bölümde Mikrobiyal hava toplayıcı cihazımızın temel yapısını oluşturan işletme bölümünün devre elemanları ve devresi hakkında kısa bilgiler vereceğiz.

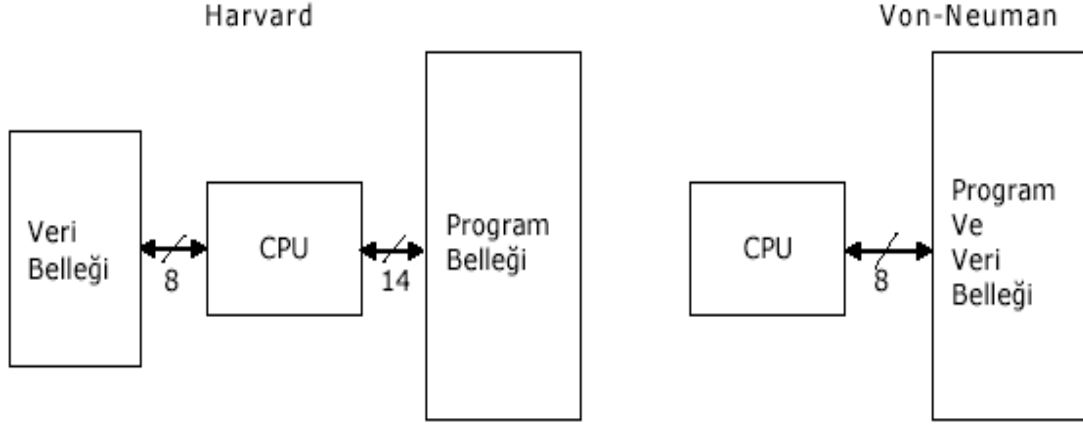
#### **3.2.1. PIC16F876 İşlemcisi**

Yüksek performanslı, CMOS, full-statik, 8 bit mikrodenetleyici özelliğine sahip olan PIC16F876 mikrodenetçisi, Harvard mimarisini kullanan PIC16CXX ve PIC17CXX ailesinin özelliklerini taşır ve bu mimaride program ve veri belleğine erişim farklı yollardan yapılır. Von-Neuman mimarisinde ise veri ve program belleğine aynı yoldan erişilebilir. Program belleğine program yolu (program bus/address bus) denilen 14 Bit'lik yol genişliğine sahip bir yolla erişirken veri belleğine 8 Bit genişliğindeki yolla erişilir. Bunun için PIC16F87X komut kodları 14 bit olup veri yolu 8 bit genişliğindedir.

14 Bitlik program belleğinin her bir adresi, bir komut koduna (introduction code/word) karşılık gelir. Bu nedenle her komuta bir çevrim süresinde (cycle) ulaşılır ve komut kaydediciye yüklenir. İşlemci tarafından kullanılan komut kaydedicisi dallanma komutları dışındaki bütün komutları tek bir çevrim süresinde çalıştırırken, dallanma veya sapma komutlarını iki ardışık periyotta yerine getirir.

Şekil 3.5'de İşlemcilerin mimari biçimi verilmiştir. PIC16F87X ailesi dış elemanları azaltacak çok önemli özelliklere sahiptir. Bu özelliğinden dolayı, PIC16F87X kullanarak yapılacak elektronik devrenin maliyeti ve enerji sarfiyatı azaltmakta ve de sistemin güvenilirliğini artmaktadır. Bunun yanı sıra tüm PIC'lerde, dört farklı osilatör tipi vardır ve kullanıcı bu modlardan birini tercih ederek iki konfigürasyon bitini (FOSC1 ve FOOSC2) programlayabilir.

Bu osilatör tiplerinden ilki, tek pinli RC (direnç kondansatör zaman sabitli) osilatörü olup 4 MHz'de çalışır ve de düşük maliyetlidir. İkincisi, LP kristal veya seramik rezonatör osilatörü olup enerji kullanımını azaltmak için kullanılır ve 40 kHz'de çalışır. Üçüncüsü, XT kristal veya seramik rezonatörü genel amaçlı olup 4 MHz de çalışır. Sonuncusu HS kristal veya seramik rezonatörü yüksek hıza sahip olup ve 20 MHz de çalışır.



Şekil 3.5. İşlemcilerin mimari biçimi

PIC mikro denetleyicilerinin en büyük özelliği sleep modunun bulunmasıdır. Sleep mod işlem yapılmadığı zaman PIC'in uyuma moduna geçmesini ve düşük akım çekmesi sağlar. Kullanıcı bir kaç iç ve dış kesmelerle PIC'i uyuma modundan çıkarabilmektedir. Yüksek güvenilirlikli Watchdog Timer kendi bünyesindeki yonga üstü RC osilatörü ile yazılımı kilitlemeye karşı korumaktadır. PIC16F876 EEPROM program belleği, aynı aygıt paketinin orijinali ve üretimi için kullanılmasına imkan sağlamaktadır. Yeniden programlanabilirliği mikroyu uygulamanın sonundan kaldırmadan kodu güncelleştirmeye izin vermektedir [78,79].

### 3.2.1.1. PIC16F876 İşlemcisinin Temel Özellikleri

PIC16F876 mikrodenetçisinin temel özellikleri aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- Yüksek hızlı RISC işlemciye sahip,
- 35 adet komut var olup bunlar 14 Bit uzunluğunda,

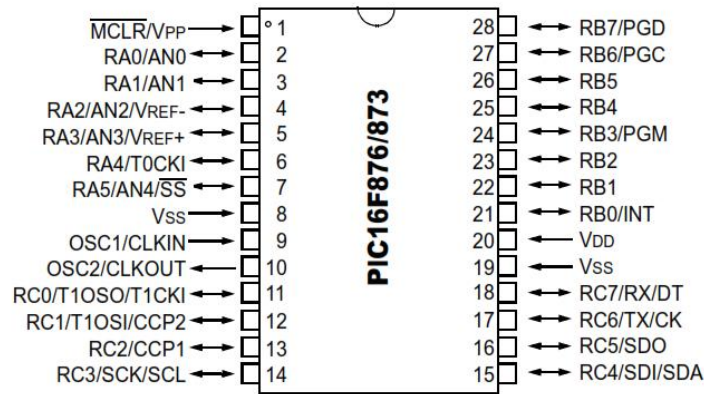
- Dallonma komutları iki çevrim süresinde uygulanırken, diğer komutlar bir çevrim süresinde çalıştırılır,
- İşlem hızı 20 MHz (200 ns) eşittir,
- 8K x 14 word'lük flash program belleği,
- 368 x 8 byte'lık veri belleği,
- 256 x 8 byte'lık EEPROM veri belleği,
- Pin çıkışları PIC16C73B/74B/76 ve 77 ile uyumlu,
- Doğrudan adresleme ve/veya dolaylı adresleme,
- POR enerji verildiği zaman resetleme,
- PWRT power up zamanlayıcı özelliği
- Watchdog Timer özel tip zamanlayıcı devre içi osilatörü,
- Programlanabilen kod koruma,
- Uyku modu sayesinde enerjiden tasarruf edilir,
- Yüksek hız ve düşük güç teknolojisine sahip MOSFLASH/EEPROM programlama,
- Debugger hata ayıklamada kullanılabilir modül,
- Seçimli osilatör özellikleri,
- İki PIN le programlanabilmesi,
- Statik tasarım,
- 5 V gerilimle devre içi seri programlanabilme özelliği,
- 2 - 5 V arasında çalışabilme özelliği ve
- Düşük güç harcaması:
  - 5 V, 4 MHz de 2 mA daha az akım çeker,
  - 3 V, 32 kHz de 20 mA daha az akım çeker ve
  - Bekleme modunda (standby) 1 mA daha az akım çeker [78].

### 3.2.1.2. PIC16F876'nın Çevresel Özellikleri

- TMR0: 8 Bit önbölücüye sahip 8 Bit zamanlayıcı/sayıcı,
- TMR1: 16 Bit zamanlayıcı/sayıcı,
- TMR2: 16 bit zamanlayıcı/sayıcı,
- 2 adet yakalama, compare, PWM,
- 200 ns hassasiyette 16 bit karşılaştırma,
- 10 bit çok kanallı A/D Çevirici (converter) PWM,
- BOR (Brown Out Reset) özelliği,
- Senkron seri port (SSP), SPI (Master Mode) [78].

### 3.2.1.3. PIC 16F876'nın Fiziksel Yapısı

PIC 16F876 mikrodenetçisi 7 x 35 mm boyutlarında ve 28 bacaklı (PIN li) PIC 16F87X ailesine ait olan bir mikrodenetçidir. İşlemcinin bacakları her bir yanında 14 adet olacak şekilde yerleştirilmiştir.



Şekil 3.6. PIC 16F876 bacak yapısı görünümü

Şekil 3.6'de görüleceği gibi; mikrodenetçinin 8 ve 19 nolu bacakları toprak olmak üzere, 20 numaralı ayağı üzerinde 5-12 V DC gerilimle beslenmektedir. Diğer bacaların görevleri ayrıntılı olarak ileride açıklanmaktadır [78].

### 3.2.1.4. PIC 16F876' nın PIN Tanımlamaları

Çizelge 3.1'de PIC 16F876'da bacak numaraları ve bacak numaraları ve görevleri ayrıntılı olarak tanımlamaları verilmiştir.

Çizelge 3.1. PIC 16F876'de PIN tanımlamaları

PIN	TANIM	I/O		AÇIKLAMASI
1	MCLR/VPP/THV	G/P		Mikrodenetleyici Reset ucu. Normal çalışmada 1 dir
2	RA0/AN0	G/Ç	TTL	PORTA: Giriş/çıkış olarak yönlendirilebilir port. Pinler G/C dışında
3	RA1/AN1	G/Ç	TTL	RA0: 0 analog giriş görevi; RA1:1 analog giriş görevi
4	RA2/AN2/VREF-	G/Ç	TTL	RA2: 2 analog veya negatif referans gerilimi giriş görevi
5	RA3/AN3/VREF+	G/Ç	TTL	RA3: 3 analog veya pozitif referans gerilimi giriş görevi
6	RA4/TOCK1	G/Ç	TTL	RA4: TIMER0 için clock giriş görevi. Açık drain çıkışa sahiptir.
7	RA5/AN4/SS	G/Ç	ST	RA5: 4 analog giriş veya SSP için slave seçimi görevi
8	VSS	P		Mikrodenetleyici toprak seviyesi
9	OSC1/CLKIN	G	ST/CMOS	Kristal osilatör girişi/Harici osilatör kaynak girişi
10	OSC2/CLKOUT	Ç		Kristal osilatör çıkışı. RC osilatör modunda 1/4 f değerinde frekans çıkışı
11	RC0/T1OSO/T1CK1	G/Ç	ST	PORTC: Giriş/çıkış olarak yönlendirilir port (PINler G/Ç görevi dışında)
12	RC1/T1OS1/CCP2	G/Ç	ST	RC0: TIMER1 osilatör çıkışı/TIMER1clock çıkışı görevi
13	RC2/CCP1	G/Ç	ST	RC1: TIMER1osilatör girişi/ Capture2 - G/Compare2-O/PWM2-Ç görevi
14	RC3/SCK/SCL	G/Ç	ST	RC2: Capture1-G/Compare1-Ç/PWM1-Ç görevi
15	RC4/SDI/SDA	G/Ç	ST	RC3: SPI ve I2C modundasenkron seri clock G/Ç görevi
16	RC5/SDO	G/Ç	ST	RC4: SPI modunda SPI veri girişi, I2C modunda veri O/Ç görevi
17	RC6/TX/CK	G/Ç	ST	RC5 SPI modundaSPI veri çıkış görevi
18	RC7/RX/DT	G/Ç	ST	RC6: USART asenkron gönderme veya asenkron klok görev
19	VSS	P		Mikrodenetleyici toprak seviyesi
20	VDD	P		Mikrodenetleyici pozitif kaynak gerilimi
21	RBO/INT	G/Ç	TTL/ST	PORTB: Giriş/çıkış olarak yönlendirilebilir port. Tüm girişlerde yazılımla
22	RB1	G/Ç	TTL	Programlanabilir düşük değerli pull-uplar vardır.
23	RB2	G/Ç	TTL	dışında;
24	RB3/PGM	G/Ç	TTL	RB0: Harici kesme ucu görevi.
25	RB4	G/Ç	TTL	RB3: Düşük seviye programlama girişi görevi.
26	RB5	G/Ç	TTL	RB6: Seri programlama girişi görevi
27	RB6/PGC	G/Ç	TTL/ST	RB7: Seri programlamada veri girişi görevi
28	RB7/PGD	G/Ç	TTL/ST	

### 3.2.1.5. Bellek Organizasyonu

PIC 16F876'de 3 bellek bloğu yeralır. Bunlar program, veri belleği ve bunları ayıran veri hattıdır. Bellekler kendi taşıyıcısına sahip olup her bir bloğa erişim aynı osilatör sürecinde olmaktadır. Ayrıca veri belleği: RAM ve özel fonksiyon kayıtları (SFR: Special Function Record) olmak üzere ikiye ayrılır. Özel fonksiyon kayıtları her bir özelleşmiş modülü ele alan bölümde bulunan özel modülleri kontrol etmek için kullanılır. Veri belleği EEPROM veri belleğini de içerir. Bu bellek dolaylı olarak planlanmış ve dolaylı adres göstergeleri okuma / yazma işlevi için EEPROM belleğinin adresini belirler [78].

### 3.2.1.6. Özel Fonksiyon Kaydedicileri

Özel fonksiyon kaydedicileri gerçek bellek birimleri olarak gözükmeseler de, PIC içerisinde veri belleği adreslerinde tanımlanmış sıradan bellek hücreleridir. Bu kaydediciler programlama esnasında kayıt tutma görevi üstlenirler. Çizelge 3.2'de özel fonksiyon kaydedicilerinin isimleri ve adresleri verilmiştir.

- STATUS kaydedicisi: Status kaydedicisi aritmetiksel işlemlerin yapıldığı, sıfırlama ve küme kurma işlemlerinin gerçekleştirildiği kaydedicidir.
- OPTION kaydedicisi: Option kaydedici üzerinde portB, TMR0 ve dış kesmeleri düzenleyici bitlerin bulunduğu kaydedicidir.
- INTCON kaydedicisi: Intcon (Interrupt Control) kaydedicisi tüm kesmelerin kontrolü için bazı okunabilir ve yazılabilir bitleri sağlayan kaydedicidir.
- PIE1 kaydedicisi: PIE1 kaydedicisi çevresel kesmelerle ilgili işlemleri gerçekleştirildiği kaydedicidir.
- PIR1 kaydedicisi: PIR1 kaydedicisi çevresel kesmelerin işlemlerini tamamlayıp tamamlamadığını kontrol eden kaydedicidir.
- PIE2 kaydedicisi: PIE2 kaydedicisi CCP2 çevresel kesmesi, SSP hat çakışması ve EEPROM yazma kesmesi kontrollerinin yapıldığı kaydedicidir.
- PIR2 kaydedicisi: PIR2 kaydedicisi CCP2 çevresel kesmesi, SSP hat çakışma kesmesi ve EEPROM yazma kesmesinin yaptığı işlemler hakkında

bilgi veren bitleri bulunduran bir kaydedicidir.

- PCL ve PCLATH kaydedicileri: Program sayıcısı hangi satırda işlem yapılacağıın kayıtlarını tutar ve işletim için komut alınması işlemlerini gerçekleştirir. 13 bit genişliğinde olup PCL kaydedicisi düşük byte'lıdır. Bu kaydedici okunabilir ve yazılabilir özelliğe sahiptir.
- Giriş/Çıkış portları: Giriş/Çıkış portları giriş/çıkış görevinin yanında bazı çevresel işlemleri de yapacak özelliklere sahiptirler. Çevre birimleri kullanıldığında genel amaçlı giriş/çıkış pini kullanılmaz.
- PORTA ve TRISA kaydedicisi: PORTA 6 bit giriş/çıkış olarak yönlendirilebilir porttur. Bu portu yönlendiren kaydedici TRISA kaydedicisidir. TRISA kaydındaki herhangi bir bit 1 ise buna uygun çıkış sürücüsü yüksek direnç moduna getirilecektir. TRISA kaydındaki herhangi bir bitin 0 olması durumunda ise çıkış mandalı seçilen pinin üzerine getirilir. Analog giriş kullanıldığında TRISA kaydedicisi RA pininin yönünü kontrol eder.
- PORTB ve TRISB kaydedicisi: PORTB 8 bit giriş/çıkış olarak yönlendirilebilir porttur. Bu portu yönlendiren kaydedici TRISB kaydedicisidir. TRISB kaydındaki herhangi bir bit 1 ise buna uygun çıkış sürücüsü yüksek direnç moduna getirilecektir. TRISB kaydındaki herhangi bir bitin 0 olması durumunda ise çıkış mandalı seçilen pinin üzerine getirilir. Analog giriş kullanıldığında TRISB kaydedicisi RB pininin yönünü kontrol eder.
- PORTC ve TRISC kaydedicisi: PORTC 8 bit giriş/çıkış olarak yönlendirilebilir porttur. Bu portu yönlendiren kaydedici ise TRISC kaydedicisidir. TRISC kaydındaki herhangi bir bit 1 ise buna uygun çıkış sürücüsü yüksek direnç moduna getirilecektir. TRISC kaydındaki herhangi bir bitin 0 olması durumunda ise çıkış mandalı seçilen pinin üzerine getirilir. Analog giriş kullanıldığında TRISC kaydedicisi RC pininin yönünü kontrol eder [78].



Çizelge 3.2 PIC16F876'de özel fonksiyon kaydedicileri ve fonksiyonları

BANK0		BANK1		BANK2	
00	INDF	80	INDF	100	INDF
01	TMRO	81	OPTION_REG	101	TMRO
02	PCL	82	PCL	102	PCL
03	STATUS	83	STATUS	103	STATUS
04	FSR	84	FSR	104	FSR
05	PORTA	85	TRISA	105	-
06	PORTB	86	TRISB	106	PORTB
07	PORTC	87	TRISC	107	-
08	PORTD	88	TRISD	108	-
09	PORTE	89	TRISE	109	-
0A	PCLATH	8A	PCLATH	10A	PCLATH
0B	INTCON	8B	INTCON	10B	INTCON
0C	PIR1	8C	PIE1	10C	EEDATA
0D	PIR2	8D	PIE2	10D	EEADR
0E	TMR1L	8E	PCON	10E	EEDATH
0F	TMR1H	8F	-	10F	EEADRH
				BANK3	
10	T1CON	90	-	180	INDF
11	TMR2	91	SSPCON2	181	OPTION_REG
12	T2CON	92	PR2	182	PCL
13	SSPBUF	93	SSPADD	183	STATUS
14	SSPCON	94	SSPSTAN	184	FSR
15	CCPR1L	95	-	185	-
16	CCPR1H	96	-	186	TRISB
17	CCP1CON	97	-	187	-
18	RCSTA	98	TXSTA	188	-
19	TXREG	99	PSBRG	189	-
1A	RCREG	9A	-	18A	PCLATH
1B	CCPR2L	9B	-	18B	INTCON

### 3.2.1.7. Veri EEPROM ve FLASH Program Hafızası

Veri EEPROM ve FLASH program hafızası, normal işlem boyunca okunabilme ve yazılabilme özelliğine sahiptir. Veri belleği, kaydedici dosyaya doğrudan planlanmamış olup özel fonksiyon kaydı üzerinden dolaylı olarak adreslenmiştir. Veri belleğini okuyan ve yazan 6 kaydedici bulunmakta olup bunlar ;

- EECON1
- EECON2
- EEDATA
- EEDATH
- EEADR
- EEADRH'dır.

Bunlardan EEDATA yazma/okuma için 8 bitlik veri tutar. EEADR erişilen EEPROM adreslerini saklar. EEDATH ve EEADRH kaydedicileri veri EEPROM'u kullanmak için erişemezler. Bunlar 0h ile FFh genişliğindeki adresli EEPROM belleğinin 256 byte'ına sahiptir.

EEPROM veri belleği yüksek silme/yazma süreçlerine oranlanmıştır. Yazma süresi chip (yonga) zamanlayıcısı tarafından belirlenmektedir. Yazma süresi yongadan yongaya olduğu gibi sıcaklık ve gerilimlerde değişmektedir. Program hafızası kelime okuma ve yazmasına izin verir. byte veya word verisi otomatik olarak silinir ve yeni veri yazılır. Program hafızası arabirimi bloklandığı zaman, EEDATH ve EEDATA kaydedicileri oku/yaz için 14 bit veriyi 2 byte word halinde tutar. EEADRH ve EEADR kaydedicileri EEPROM'da 13 bitlik 2 byte word adresini tutar. Bu aygıtlar 0h ile 3FFFh arasındaki adreste 8 kiloword program EEPROM'una sahiptir. Program hafızasına yazılan değer bir talimat olmayı gerektirmez. Bu yüzden kalibrasyon parametreleri, seri numaraları ASCII kodunda depolanabilir [78].

### **3.2.1.8. ZAMANLAMA 0 (TIMER0) Modülü ve TMR0 Kaydı**

Timer0 modülü, sayaç (timer) aşağıdaki özelliklere sahiptir.

- 8 bitlik timer/sayaç,
- 8 bitlik programlanabilir prescaler,
- Okunabilir ve yazılabilir,
- İçten veya dıştan saat ayarı,
- FFh`tan 00h`ye taşma üzeri kesme,
- Dış saatin sınır seçimi gibi işlemler yapılabilir [78].

### **3.2.1.9. ZAMANLAYICI 1 (TIMER1) Modülü**

Timer1 modül: Timer/sayaç aşağıdaki özelliklere sahiptir.

- 16 bit timer/sayaç,
- Okunabilir ve yazılabilir,
- İçten ve dıştan saat seçimi,
- FFFFh`den 000h`a taşma üzeri kesme,
- CCP modülünden resetleme gibi işlemleri yapmaktadır [78].

### **3.2.1.10. ZAMANLAYICI 2 (TIMER2) Modülü**

Timer2 modül aşağıdaki özelliklere sahiptir.

- 8 bit zamanlayıcı (TMR2 kaydedici),
- 8 bit periyot kaydedici (PR2),
- Okunabilir ve yazılabilir,
- Yazılım ile programlanabilir prescaler,
- TMR2, PR2 eşlemede kesme,
- Saat kaymasını üretmek için TMR2 çıkışının seçimli kullanımı SSP modülünü

içermektedir [78].

### **3.2.1.11. CAPTURE/COMPARE/PWM(CCP) Modülü**

CCP modülleri yakalama, karşılaştırma, puls genişliği modülasyonu gibi işlemleri gerçekleştirmek üzere bazı özelliklere sahiptir. CCP modülleri 16 bitlik yakalama (capture) kaydedicisi, 16 bitlik karşılaştırma (compare) kaydedicisi veya PWM kaydedicisine sahiptir [78].

### **3.2.1.12. MSSP (Asıl Eşzamanlı Seri Port) Modülü**

MSSP modülü başka çevre birimlerle veya mikrodenetleyicilerle seri olarak haberleşmeyi sağlayan bir arabirimdir. MSSP modülünün iki çeşit çalışma modu bulunmaktadır.

- Serial Peripheral Interface (SPI),
- Inter-Integrated Circuit (I<sup>2</sup>C).

MSSP modülünde işlemleri kontrol eden başlıca üç kaydedici bulunmakta olup bunlar SSPSTAT, SSPCON, SSPCON2 kaydedicileridir [78].

### **3.2.1.13. USART (Adreslenebilir Evrensel Senkronize/Asenkronize Alıcı/Verici) Modülü**

USART modül verilerin senkron veya asenkron iletimi için kullanılan ve belli bir protokol dahilinde işlem yapan bir birimdir. Bu modül;

- Verinin seriden paralele ve paralelden seriye dönüştürülmesi,
- Eşlik bitlerini eklemek ve bu bitleri kontrol ederek hata bulmak ve
- Başlatma ve durdurma bitlerini eklemek ve bulmak, gibi işlemleri yapabilmektedir.

İşlevsel açıdan, USART modülü alıcı ve verici olarak iki bölüme ayrılır. USART modülü veri aktarmadan önce USART denetim kaydedicisine iki yönde, verinin özelliğini gösterecek bir denetim sözcüğü programlanmalıdır. Temel olarak başlatma biti isteğe

bağlı olmayan tek bittir ve yalnızca bir başlatma biti bulunur. Bir başlatma durumu için bu bitin mantıksal 0 seviyesinde olması gerekmektedir. PIC 16F876'de USART modülünün kontrolü için TXSTA ve RCSTA kaydedicileri mevcuttur [78].

#### **3.2.1.14. ADC (Analog Dijital Konvertör) Modülü**

PIC16F876'de 8 kanallı 10 bit'e kadar çevirme işlemi yapabilen bir analog-dijital çevirici (ADC) modülü bulunmaktadır. PIC16F876 üzerindeki ADC modülün çalışması şu şekildedir. Analog giriş örnekle ve tut kondansatörünü şarj eder. Örnekle ve tut kondansatörünün çıkışı dönüştürücünün girişine uygulanır. Dönüştürücü, ardışık yaklaştırma ile bu analog düzeyin sayısal sonucunu üretir. Bu A/D dönüşümde, analog giriş sinyali 10 bitlik sayı karşılaştırma ile sonuçlanır. İşlem yapmazken uyuma moduna geçer. Uyuma modunda ADC' nin saatinde bir iç RC osilatörü üretilmelidir. ADC Modül dört (4) kaydediciye sahiptir.

Bunlar;

- A/D Yüksek sonuç kaydedicisi (ADRESH)
- A/D Düşük sonuç kaydedicisi (ADRESL)
- A/D Kontrol kaydedici 0 (ADCON0) ve
- A/D Kontrol kaydedici 1 (ADCON1)'dir.

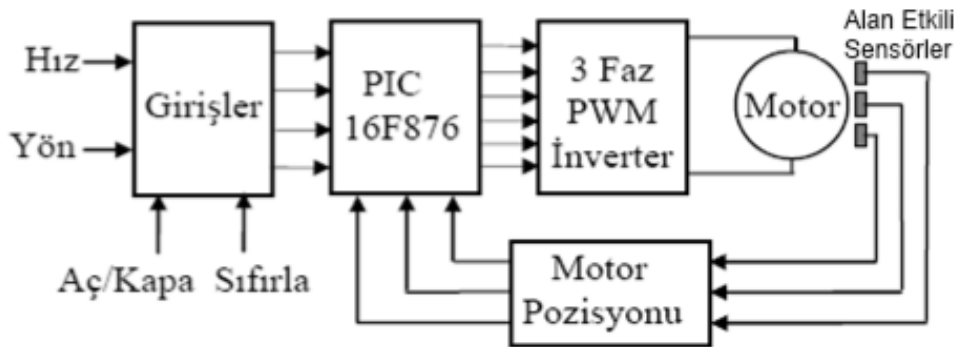
Bu A/D çeviricinin kontrolünü ADCON0 ve ADCON1 kaydedicileri sağlamaktadır [76].

#### **3.2.1.15. Biçimlendirme (Konfigürasyon) Bitleri**

Biçimlendirme bitleri çeşitli aygıt işlevlerini seçmek için programlanabilir ('0' veya '1' olarak okur) ya da programlamadan bırakılabilir. Bu bitler 2007h program bellek yerleşiminde saklanır. 2007h adresi kullanıcı program bellek biriminin ötesindedir ve özel test/biçim bellek birimine (2000h-3FFFh) aittir. Bu birime yalnızca programlama sürecinde erişilebilir[78].

### 3.2.2. PIC İşlemcisi ile Motor Hızı/Hava akış hızı Kontrolü (Elektronik Hız Kontrolörleri-ESC)

Toplayıcı bölümünde hava emişini sağlamak için Fırçasız doğru akım motoru kullanmıştır. Fırçasız doğru akım motorların yapısı ve sürülmesi beş birimden oluşmaktadır. Bunlar; sabit mıknatıslı rotor, üç fazlı ve sargıları elektronik olarak enerji verilen stator, geri besleme üniteleri (pozisyon algılayıcı sensörler ile akım ve hız geri besleme bilgileri), evirici ve sürücü birimi, denetleyici (yazılımsal ve donanımsal yapılar)'dir. Fırçasız doğru akım motor sürücü sisteminin yapısı Şekil 3.7'de görülmektedir [79].



Şekil 3.7. PIC16F876 ile gerçekleştirilen fırçasız dc motor sürücü sistemi

Şekil 3.7'da görüldüğü gibi işlemci PIC16F876 entegresi kullanılmış olup Alan (Hall) etkili pozisyon sensörleri vasıtasıyla rotor pozisyonu denetleyiciye bildirilerek motorun istenilen parametrelere göre çalışması sağlanmaktadır. Şekilde motor ile ifade edilen, üç fazlı ve sargıları elektronik olarak enerji verilen stator ve sabit mıknatıslı rotorun birleşimidir. Evirici ve sürücü birimi olarak 12 V Elektronik hız kontrolörü (ESC) kullanılmıştır. Elektronik hız kontrolörleri, fırçasız motorları kontrol etmek için kullanılır. Bu devreler motorların bobinlerine sırasıyla PWM dalgası gönderir.

Bir ESC devresi üç sistemden oluşur. Bunlar;

- Servo sinyallerini çözücü ve işleyici MCU
- Motor akım yükseltme devresi (Fet, Mosfet Transistorlu devreler)
- Geribildirim devresi motorlarda oluşan EMI'yı ölçen devre [80,81].

### **3.2.3. PIC İşlemcisi ile Sıcaklık Kontrolü (LM35 Santigrad Doğruluklu Sıcaklık Sensörü)**

Elektronik uygulamalarda algılama işlemini yapan sistem ve ya elemanlara sensör denir. Sensörler algılayıcı ya da duyurga olarak da adlandırılmaktadır. Sensörler, fiziksel ortam ile elektronik cihazları birbirine bağlayan bir köprü görevi görürler. Sistemdeki sensör veya sensör gruplarının yapısı hangi değişkene duyarlı ise sistem bu değişkeni algılar ve elde ettiği değerleri sistemin karar verme birimine yollar. Sensörlerin yapısı çeşitli değişkenlere göre çalıştığından kullanacağımız alana en uygun sensör veya sensör gruplarını seçmemiz gerekir. Bu çalışmada inkübasyon bölümünde bulunan Peltier'in sıcaklığını kontrol etmek için LM35 Santigrad Doğruluklu Sıcaklık Sensörü kullanılmıştır (Şekil 3.8).

#### **3.2.3.1. LM35 Santigrad Doğruluklu Sıcaklık Sensörü**

LM35 serisi çıkış voltajı Santigrad sıcaklıkla lineer olarak orantılı olan entegre devre sıcaklık sensörleridir. LM35 °Kelvin olarak kalibrasyon yapılan lineer sıcaklık sensörlerine göre avantajlıdır, çünkü kullanıcının uygun Santigrad skalası elde etmesi için çıkıştan büyük bir sabit voltaj değeri çıkarması gerekmemektedir. LM35 oda sıcaklığında  $\pm 1/4^{\circ}\text{C}$ 'lik,  $-55$  ile  $+150^{\circ}\text{C}$  sıcaklık aralığında ise  $\pm 3/4^{\circ}\text{C}$  lik tipik doğruluk değerleri sağlaması için ayrı bir kalibrasyona ihtiyaç duymaz. LM35 sıcaklık sensörünün maliyeti düşüktür. LM35 alçak çıkış empedansı, lineer çıkışı ve doğruluklu kalibrasyonu ile sıcaklığın doğrudan okunması için arabirim veya kontrol devresi olarak kullanımda kolaylık sağlar. Bunlar tek güç kaynağı veya +/- güç kaynakları ile kullanılabilir. Kaynaktan yalnızca  $60\ \mu\text{A}$  akım çektiğinden, hava içerisinde  $0.1^{\circ}\text{C}$ 'dan daha küçük bir kendi kendine ısınma değerine sahiptir. LM35  $-55^{\circ}$  ile  $+150^{\circ}\text{C}$ 'lik bir anma sıcaklık genliğinde çalışacak şekilde olmasına karşılık, LM35C  $-40^{\circ}$  ile  $+110^{\circ}\text{C}$ 'lik bir anma sıcaklık genliğinde çalışacak şekilde tasarlanmıştır. LM35 serisi TO-46 transistör paketi tipinde imal edilmekle birlikte, LM35C, LM35CA ve LM35D plastik TO-92 transistör paketi tipinde de imal edilmektedir. LM35D 8 uçlu küçük yüzey montajı paketi şeklinde ve plastik TO-220 paketi şeklinde imal edilmektedir [82].

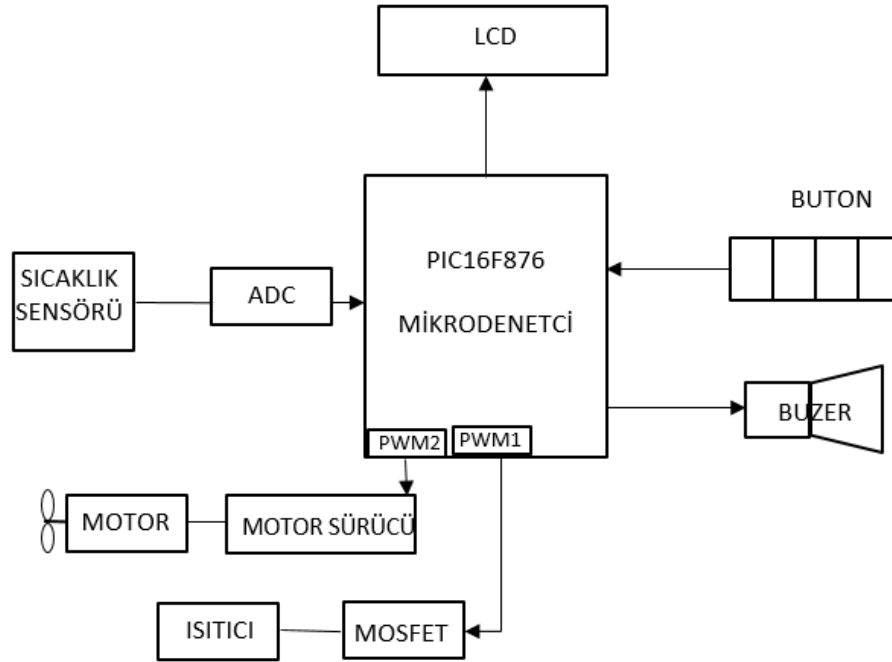




### 3.2.4. Devrenin Yapılması

Sistemin blok diyagramı Şekil 3.9’de görüldüğü gibidir. Sistemde iki sıralı ve 16 karakter içeren LCD ekran bulunmaktadır. Butonlar ile ayarlanan akış hızı, süre ve sıcaklık değeri bilgileri burada görünmektedir.

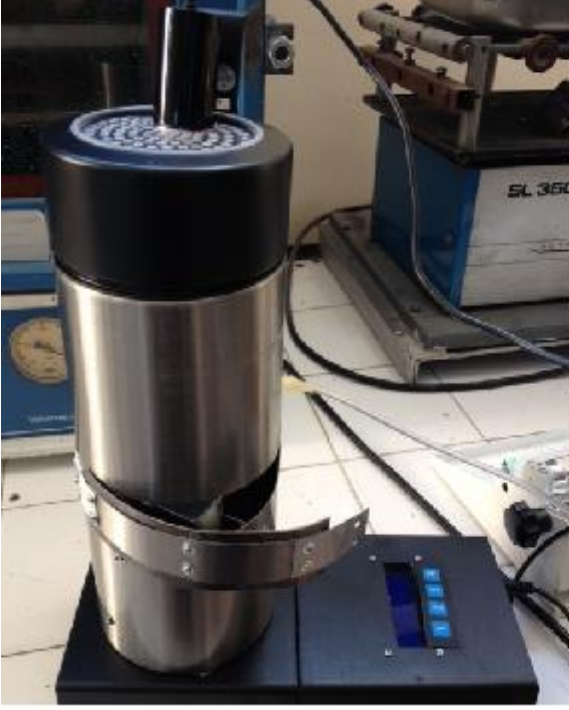
Giriş devresinde 4 adet buton kullanılmıştır. Bu butonlardan 1 tanesi menüyü seçmek için kullanılırken, diğer bir tanesi set butonu olarak kullanıldı. Diğer iki butondan bir tanesi akış hızını, akış süresini ve inkübasyon sıcaklığını ayarlarken artırma butonu, diğeri de azaltma butonu olarak kullanıldı.



Şekil 3.9. Sistemin blok diyagramı



Şekil 3.12'de tasarladığımız sistemin dış görünümü ve elektronik devresi görülmektedir.



(a)



(b)

Şekil 3.12. Tasarlanan sistemin a) Dış görünümü, b) İşletme Bölümü

### 3.3. Mikrobiyal Hava Toplayıcı Sisteminin Yazılımı (PICBASIC)

Mikrobiyal hava toplayıcı cihazımızda kullandığımız PIC 16F876 mikrodeneçisini programlamak için kaynak kodu yazımı, kaynak kodun derlenerek makine diline çevrimi ve makine diline çevrilmiş programı PIC'e yazdırma şeklinde üç ana işlemi yapmamız gerekir. Bu işlemleri yapmak için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Biz burada üst düzey programlama dili olan BASIC 'in, bir denetleyici olan PIC için düzenlenmiş sürümü olan PICBASIC'i kullandık. Bu programlama dili kullanılarak, PIC çok daha kolay ve hızlı biçimde programlanabilmektedir [83].

### 3.3.1. PIC BASIC Komutları

PIC BASIC, 65 adet komut içermekte olup 65 komut tüm programlama ihtiyacını karşılamaktadır. Ayrıca Assembly kodu kullanılmak istendiğinde ASM.. ENDASM komutlarının arasına yazarak Assembly kodları da BASIC kodlarıyla birlikte kullanılabilir. Komutlar Çizelge 3.3'de verilmiştir [83].

Çizelge 3.3. PIC BASIC Komutları

@	ASM.ENDASM	ADCIN	BRANCH	BRANCHL
BUTTON	CALL	CLEAR	CLEARWDT	COUNT
DATA	DTMFOUT	EEPROM	END	FREQOUT
FOR-NEXT	GOSUB	GOTO	HIGH	HSERIN
HPWM	HSEROUT	I2CREAD	I2CWRITE	INPUT
IF-THEN-ELSE	LCDOUT	LCDIN	LET	LOOKDOWN
LOOKDOWN2	LOOKUP	LOOKUP2	LOW	NAP
OUTPUT	OWIN	OWOUT	PAUSE	PAUSEUS
POT	PULSIN	PULSOUT	PWM	RANDOM
RCTIME	READ	READCODE	RETURN	REVERSE
SELECT-CASE	SERIN	SERIN2	SEROUT	SEROUT2
SHIFTIN	SHIFTOUT	SLEEP	SOUND	STOP
SWAP	TOGGLE	WRITE	WRITECODE	WHILE-WEND

### 3.3.2. PIC BASIC Derleyicisi: Microcode Studio

Bir programlama dili olan PIC BASIC kullanılarak, gerekli algoritma ile birlikte yazılan kod mikrodenetçinin anlayacağı duruma getirilmelidir. İşlemci, kısaca HEX kodu dediğimiz on altılık tabandaki rakam ve harflerden oluşan bir sisteme ait kodları içine alıp, o kodların istediği şekilde çalışmasını düzenlemektedir. PIC BASIC kodlarının HEX kodlarına çevrilmesi Microcode Studio yazılımı ile sağlanmaktadır. HEX dosyasını oluşturmak için programda PIC modeli seçilir. Microcode Studio HEX kodundan başka Assembler kodunda, aynı dizine aktarmaktadır [83].

### **3.3.3. PIC İçine Program Yüklenmesi ve IC-Prog Yazılımı**

PIC içine hazırlanan programın yüklenmesi için IC-Prog yazılımı kullanılır. IC-Prog; çeşitli modellerdeki mikrodeneilere ve mikroişlemcilere hexadecimal program kodunu yüklemeye yarayan bir yükleme yazılımıdır. 12Cxx, 16Cxxx, 16Fxx, 16F87x, 18Fxxx, 16F7x, 24Cxx, 93Cxx, 90Sxxx, 59Cxx, 89Cx051, 89S53, 250x0, 80C51 mikrodeneleyici, EEPROM ve mikroişlemci serilerini destekleyen IC-Prog, aynı zamanda hexadecimal kodun assembly koduna çevrilmesi işlemini de gerçekleştirebilmektedir. Yazılım, en az 8 MB RAM ve 386 işlemcili Windows işletim sistemine sahip bir bilgisayara ihtiyaç duymaktadır [83].

Tasarlanan Mikrobiyal Hava toplama ve inkübasyon işlemini yapan cihazımızın PIC BASIC ile hazırlanmış yazılımı Ek.3'de verilmiştir.

## 4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Sunulan çalışma kapsamında yapılan deneysel çalışmalar boyunca tasarladığımız Mikrobiyal hava toplayıcı ve okuyucu sistemimiz geliştirilmiştir. Deneysel çalışmalarımız üç aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada, üç farklı hava örnekleme yöntemi kullanılmış ve bu yöntemler değerlendirilmiştir. Kullanılan yöntemler günümüzde hastanelerde ve diğer temiz odalarda biyokontaminasyon kontrolü için kullanılan partikül sayımı ve pasif örnekleme yöntemi ile son yıllarda kullanılmaya başlanan aktif örnekleme yöntemidir.

Bir örnekleme ile bütün aerosolleri toplamak ve analiz etmek genel bilgiler bölümünde de bahsettiğimiz gibi mümkün değildir. Uygun bir örnekleme metodunun seçilmesi için örnekleme çevresine, kullanılan analiz yöntemlerine ve izleme amaçlarına dikkat etmeliyiz.

Deneysel çalışmaların ikinci aşamasında, bu tez çalışmasında tasarlamayı planladığımız aktif hava örnekleme sisteminde hangi yöntemi kullanacağımızı belirlemek için farklı aktif hava örnekleme yöntemleri test edilmiştir. Ayrıca kullanacağımız yöntemlere göre en uygun örnekleme hacimlerinin, örnekleme hızının ve örnekleme süresinin belirlenmesi gibi çeşitli deneysel çalışmalar yapılmıştır.

Son aşamada tasarlanan hava örnekleme sistemine ek olarak inkübasyon işleminin de aynı sistem üzerinde yapılmasını ve takibini sağlamak için sistem geliştirilmiş ve bunlarla ilgili çalışmalar yapılmıştır.

### 4.1. Koloni Sayım Yöntemi Ve Partikül Sayımı Yöntemi Kullanılarak Hava Örnekleme

Bu deneysel çalışma Ankara Hastanesinin Nöroloji Yoğun Bakım ünitesinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada koloni sayım yöntemlerinden Pasif hava örnekleme ve aktif hava örnekleme yöntemleri kullanılmıştır. Ayrıca eşzamanlı olarak ortamda partikül sayımı yapılmıştır.

#### **4.1.1. Deneysel Çalışmanın Yapıldığı Ortam**

Bu çalışma Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesinde yapılmış olup, yoğun bakım üniteleri hastanelerdeki hastaların küçük bir kısmını barındırmalarına karşılık, hastane enfeksiyonlarının %25-35'ini oluşturur. Bu ünitelerde gelişen enfeksiyonların çoğu hastanın endojen florasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte irrigasyon solüsyonları, vantilatörler, lavabolar, çeşme suyu, buhar makinaları, yüzeyler ve tıbbi araçlar, tıbbi işlemlerde kontaminasyon olabilir[83].

Sağlık Bakanlığı Yoğun Bakım Ünitelerinde enfeksiyon kontrolü için, Yataklı Sağlık Tesislerinde Yoğun Bakım Hizmetlerinin Uygulama Usul Ve Esasları Hakkında Tebliğinde Enfeksiyon Kontrolü başlığında;

**MADDE 11 – (1)** Yoğun bakım servislerinde 11.08.2005 tarihli ve 25903 sayılı Resmî Gazete' de yayımlanarak yürürlüğe giren Yataklı Tedavi Kurumları Enfeksiyon Kontrol Yönetmeliği doğrultusunda etkin enfeksiyon kontrol programlarının uygulanması zorunludur. Üçüncü seviye yoğun bakım servislerinde enfeksiyon kontrolü ile ilgili olarak alınacak ilave önlemler şunlardır:

- a) Tüm yoğun bakım servislerinde merkezi havalandırma sistemi kullanılır. Üçüncü seviye yoğun bakım servislerinde ise en az % 90 filtrasyon sağlayan, saatte asgari altı kez dış hava değişimi yapabilen, sıcaklığın 22-28°C, bağıl nemin %30-60 arasında ayarlanabildiği, Bakanlıkça belirlenen ulusal standarda uygun, merkezi havalandırma sistemleri kurulur. Havalandırma sisteminin validasyonu sağlanır, düzenli olarak fiziksel ve mikrobiyolojik kontrolleri gerçekleştirilerek performans kalifikasyon uygunluğu izlenir ve kayıt altına alınır. Standardizasyonun yetkili kuruluşlara yaptırılması sağlanır [85] ,

maddesi yer almaktadır. Deneysel çalışmanın yapıldığı Yoğun bakım ünitesi bu şartları sağlayan bir ünedir.

#### **4.1.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler**

Pasif Hava örneklemede havada bulunan partiküller, kütlelerine bağlı olarak ve yerçekiminin etkisiyle açık bırakılan petri kaplarına düşmektedir. Standart olmamakla birlikte pasif hava örnekleme 15 dakika-1 saat arası bir süre petri kapların bu alanda

bekletilmesi ile olmaktadır. Bu çalışmada Pasif Hava örneklemeyi içerisinde Mueller-Hinton agar bulunan 90 mm'lik petri kabı 1 saat açık bekleterek gerçekleştirdik.

Aktif hava örneklemede Impaction yönteminde Sieve tipi impactorler benimsenerek tasarladığımız Mikrobiyal Hava Örnekleme cihazımız kullanılmıştır. Impaction yöntemi, belirli sürede belirli hacimdeki havanın örnekleme cihazı ile çekilerek, besiyeri ortamına çarptırılması esasına dayanmaktadır. Sieve impactorler, havanın belirli bir hızda emilerek, üzerinde çok sayıda delik bulunan levhadan geçirilerek besiyeri ortamına çarptırılması prensibi ile çalışır. Çalışmada kullandığımız, tasarladığımız Mikrobiyal hava örnekleme cihazımızın (Şekil 4.1) teknik özellikleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Deney çalışmasında bu cihazın içinde yer alan petri kap yerleştirme bölgesine, içerisinde Mueller-Hinton agar bulunan 90 mm'lik petri kap yerleştirilmiş ve cihaz 100 lt/dk akış hızında 100 lt örnekleme hacmi için 1 dakika çalıştırılmıştır.



Şekil 4.1. İlk tasarlanan Mikrobiyal Hava Örnekleme cihazımız



## Çizelge 4.1. Tasarlanan Mikrobiyal Hava Toplayıcı Cihazının Teknik Özellikleri

### Teknik Özellikler

Örnekleme başlığının çapı	8 cm
Nominal Hava Akışı	100 lt/dk
Standart Örnekleme Hacimleri	50, 100, 250, 500, 1000 lt
Motor	Fırçasız Turbo motor, 12 V
Kontrol Paneli	2X16 LCD Display

**Cihazın kalibrasyon Anomometre ile yapılmaktadır.**

Partikül Sayımında Şekil 4.2’de gösterilen PMS/LASAIR III marka partikül ölçüm cihazı kullanılmıştır. Partikül ölçüm cihazı ile 1 ft<sup>3</sup> veya 1 m<sup>3</sup>’de bulunan 0.3, 0.5, 1.0, 5.0 µ çapında partiküller sayılmaktadır. Bu sayım şekli FEDERAL STD 209 E, TS 11605 ve ISO EN 14644-1 standartlarına uygun olarak yapılmaktadır. Partikül ölçüm cihazı bir dakika süreyle çalıştırılarak (çalışma süresi cihazın özelliğine bağlı olarak uzayabiliyor) 3 farklı bölgede ölçüm yapılmıştır.



Şekil 4.2. Partikül Ölçüm Cihazı

#### **4.1.3. Örnekleme Sonrası İşlemler**

Koloni sayım yöntemlerinden Pasif hava örnekleme ve Aktif hava örnekleme yapıldıktan sonra alınan petri kaplar inkübasyon amacı ile etüv cihazına konulmuştur. Petri kapların 24-48 saat boyunca 37<sup>0</sup> C'da inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

#### **4.2. Mikrobiyal Hava Örnekleme Cihazı ile Farklı Örnekleme Hacimlerinde Örnekleme Yapma**

Bu çalışma Ankara Hastanesi Yanık Ünitesinde yapılmış olup farklı örnekleme hacimlerinde hava örnekleri alınarak karşılaştırma yapılmıştır.

##### **4.2.1. Deneysel Çalışmanın Yapıldığı Ortam**

Bu çalışma Yanık ünitesinde yapılmış olup, yanık hastaları hastane ortamında yüksek mortalite ve morbiditeye sahip en kritik hastalar arasında bulunurlar. Günümüzde yanık ünitesinde yatan hastaların ölüm nedenlerini hipovolemik şok ya da ozmotik şok yerine % 75 oranla enfeksiyonlar sebep olmaktadır [86]. Yanık yüzeyindeki bakteriyel floranın türü ve direnç paterninin bilinmesi, hızlı ve güvenilir tedavi uygulaması açısından oldukça önem taşır. Yanık türü travmalarda cilt bütünlüğünün bozulması sonucu ciltte ve çevresel ortamda kolonize olan bakterilerin daha derin dokulara geçişine imkan sağlar [87]. Bu sebeplerden dolayı Yanık üniteleri Yüksek Riskli bölgelere girmektedir.

##### **4.2.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler**

Bu çalışmada daha önce tasarladığımız Mikrobiyal Hava Örnekleme cihazımız kullanılmıştır (Şekil 4.1). Ancak burada bir önceki deneyden farklı olarak, farklı örnekleme hacimlerinde örnekleme yapılmıştır. Mikrobiyal hava örnekleme cihazı ile 100 lt/dk akış hızı ile impaction yöntemi kullanılarak besiyeri üzerine sırası ile 100-250-500-1000 lt hava çarptırılmıştır. Besiyeri olarak Mueller-Hinton agar kullanılmıştır.

Partikül Sayımında PMS/LASAIR III marka partikül ölçüm cihazı kullanılmıştır. Partikül ölçüm cihazı ile 3 farklı bölgede ölçüm yapılmıştır.

#### **4.2.3. Örnekleme Sonrası İşlemler**

Impaction yöntemi ile farklı örnekleme hacimlerinde yapılan örnekleme sonrasında petri kaplar Etüv cihazına konulmuştur. Etüv cihazında 24-48 saat boyunca 37<sup>0</sup> C'da inkübasyonu gerçekleştirilmiştir.

#### **4.3. Mikrobiyal Hava Örnekleme Cihazı Kullanılarak Impaction ve Filtrasyon Yöntemi ile Örnekleme Yapma**

Bu çalışma Ankara Hastanesi Yanık Ünitesinde yapılmıştır. Aktif hava örneklemede kullanılan impaction yöntemi ve filtrasyon yöntemi burada tasarladığımız cihazın başlıkları değiştirilerek denenmiştir.

##### **4.3.1. Deneysel Çalışmanın Yapıldığı Ortam**

Bu çalışma bir önceki çalışmamız gibi Yanık ünitesinde yapılmıştır.

##### **4.3.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler**

Bu çalışmada daha önce tasarladığımız Mikrobiyal Hava Örnekleme cihazımız kullanılmıştır (Şekil 4.1). Ancak burada aktif hava örneklemede kullanılan iki farklı yöntem kullanılmıştır. Impaction yöntemi ve filtrasyon yöntemi.

Impaction yönteminde daha öncede bahsettiğimiz gibi hava belirli bir hızda emirerek üzerindeki çok sayıda delik bulunan levhadan geçirilerek agar emdirilmiş petri kaba çaptırılması sağlanır.

Filtrasyon Yönteminde, vakum etkisiyle havanın özel bir filtre üzerinden geçirilmesi ve mikroorganizmanın bu filtre üzerinde tutulması prensibine dayanır. Burada Sentetik elyafı EU9 filtre kullanılmış olup 0,3-1 µm boyutlarındaki partikülleri tutar. Mikroorganizmanın üzerinde tutulduğu filtre, besiyeri üzerine yerleştirilerek inkübe edilir ve oluşan koloniler sayılır.

Tasarlanan Mikrobiyal Hava Örnekleme cihazımızın başlıkları değiştirilerek iki farklı yöntem karşılaştırılmıştır (Şekil 4.3). Her iki yöntemde de Mikrobiyal hava örnekleme cihazı 100 lt/dk akış hızı ile 100-250-500-1000 lt hacimlerinde havanın toplanması

sağlanmıştır.

Impaction yönteminde besiyeri olarak Mueller-Hinton agar kullanılmıştır. Filtrasyon yönteminde ise filtre olarak 1-0.5  $\mu\text{m}$  çapındaki partikülleri tutma özelliğine sahip EU9 filtre kullanılmıştır. Kullanılan filtreler işlem öncesi Etilen Oksit ile steril edilmiştir.

Partikül Sayımında PMS/LASAIR III marka partikül ölçüm cihazı kullanılmıştır.



Şekil 4.3. Örneklemeye Başlıkları a) Impaction Yöntemi, b) Filtrasyon Yöntemi

#### 4.3.3. Örneklemeye Sonrası İşlemler

Impaction yöntemi ile 100 lt/dk akış hızıyla önce delikli başlık yardımıyla besiyeri üzerine sırası ile 100-250-500-1000 lt örneklemeye hacimlerinde yapılan örneklemeye sonrasında petri kaplar Etüv cihazına konulmuştur. Etüv cihazında 24-48 saat boyunca 37<sup>0</sup> C'da inkübasyonu gerçekleştirilmiştir.

Filtrasyon Yöntemi ile 100 lt/dk akış hızıyla üzerinde EU9 (1-0.5  $\mu\text{m}$  ) filtre bulunan başlığa sırası ile 100-250-500-1000 lt örneklemeye hacimlerinde yapılan örneklemeye sonrasında filtreler önce Kanlı agar içerisinde sonrasında EMB besiyerinde 3 dk. bekletirdi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Filtrasyon yöntemi ile yapılan örnekleme sonrası filtrenin besiyerine uygulanması

#### 4.4. Mikrobiyal Hava Örnekleyici Cihazının Oluşturulan Kapalı Ortamda Çalışması

Bu çalışmada camdan kapalı bir ortam oluşturularak ortama verilen belirli miktardaki mikroorganizmanın Mikrobiyal hava örnekleyici cihazımız tarafından toplanması planlanmıştır.

##### 4.4.1. Deneysel Çalışmanın Yapıldığı Ortam

Şimdiye kadar yaptığımız tüm çalışmalarımızın yapıldığı ortam temiz oda olarak adlandırdığımız yoğun bakım ve yanık üniteleri idi. Burada bulunan iç hava sürekli değiştiği ve ortama verilen hava filtrelerden geçtiği için çok fazla partikül bulunmamaktadır. Bu çalışmada ise kapalı bir ortamı simule etmek amaçlı camdan  $40 \times 30 \times 25 \text{ cm}^3 = 30 \text{ lt}$  ölçüsünde bir ortam oluşturmuştur. Bunun alt kısmına cihazın

girebilmesi için uygun ölçüde delik açılmış, cihazın toplayıcı bölümü alt kısımdan ortama girilmiştir. Etrafı ortamdaki dışarıya bakteri çıkışını engellemek amacı ile yalıtılmıştır. Yan tarafına mikroorganizmaları püskültebilmek için kapaklı bir delik yapılmıştır. Ayrıca ortamdaki havayı dolaştırabilmek için içine bir fan yerleştirilmiştir (Şekil 4.5). Deney Laminar Flow içerisinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.5. Çalışmanın yapıldığı deney düzeneği

#### 4.4.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma (*Escherichia Coli*)

Bu çalışmamızda genelde *E. coli* kısaltması ile veya koli basili olarak bilinen *Escherichia coli* bakterisi ile çalışılmıştır. *Escherichia coli* bakterisi memeli hayvanların kalın bağırsağında yaşayan bakteri türlerinden biridir. Normalde bağırsakta yaşadığı için, *Escherichia coli* 'nin çevresel sularda varlığı dışkı kirlenmesinin bir belirtisidir. *Escherichia coli*, normal bağırsak florasına aittir, biyolojik sınıflandırmada da bağırsaklarda yaşayan bakterilerden oluşan enterik bakteriler ailesinde yer alır. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0.1-0.5 µm çapındadır. Gram-negatif bir bakteri olduğundan endospor oluşturmaz, pastörizasyon veya kaynatma ile

ölür. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olmuş olduğu için en iyi vücut sıcaklığında çoğalır [88].

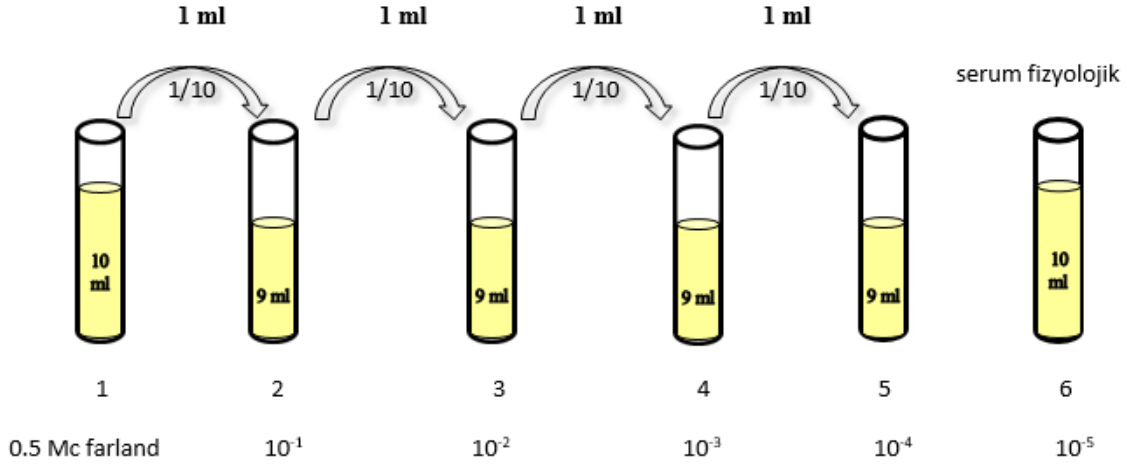
Barsak florasındaki aeroblar içindeki en yoğun bakteri olan *Escherichia coli* çevre ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarında önemli yer tutmaktadır. Birçok çalışmada kan kültürlerinden en sık izole edilen gram negatif çomaktır. Bunun sebebi normal flora elemanı olmasının yanında sahip olduğu virulans faktörleri ve kullanılan antibiyotiklere geliştirdiği dirençdir. *Escherichia coli* üriner sistem enfeksiyonları başta olmak üzere sepsis, peritonit, yenidoğan menenjit, yara yeri enfeksiyonuna da neden olmaktadır. *Escherichia coli* bakterisi non komplike üriner sistem enfeksiyonlarının % 70 'den fazlasında etken olarak bildirilmektedir [88].

#### **4.4.3. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler**

Bu çalışmada daha önce tasarladığımız Mikrobiyal Hava Örnekleme cihazımız Şekil 4.5'de görüldüğü gibi cam ortam içerisine yerleştirilmiştir. Mikrobiyal hava örnekleme cihazı 100 lt/dk akış hızı ile çalışmakta olup oluşturulan ortamın hacmi 30 lt olması sebebi ile ortamdaki havanın toplanması için cihazın 18 sn çalışması yeteri olmaktadır.

Burada ortama *Escherichia coli* vereceğimiz için ortamdaki canlı mikroorganizma sayısı fazla olacaktır. Canlı mikroorganizma sayısının fazla olması durumunda petri kutu üzerine toplanan mikroorganizma sayısında fazla olacağından oluşan kolonilerin sayılması olanaksızdır. Bu gibi örneklerde sayım, dilüsyon (seyreltme) tekniği ile yapılır. Dilüsyon tekniğinin esası, materyaldeki hücre sayısını bir seri seyreltme yaparak kademeli bir şekilde azaltmaktır. Bu amaçla genellikle 1:9 (10 misli) oranında seyreltme yapılır.

Deneysel çalışmamızda 0.5 McFarland *Escherichia coli* çözeltisinden farklı derişimlerde *Escherichia coli* solüsyonlarını elde etmek için Şekil 4.6'de görüldüğü gibi seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir. McFarland bulanıklık standardı sıvı ortamda oluşturulan bakteri süspansiyonlarında gözle karşılaştırılarak içerdikleri bakteri sayısını yaklaşık olarak saptamayı sağlamaktadır. Bu çalışmada en sık kullanılan McFarland 0.5 değeri ile bakteri yoğunluğunu ayarlanmıştır.



Şekil 4.6. Farklı derişimlerde *Escherichia coli* elde etmek için gerçekleştirilen seyreltme protokolu

1. 10 ml 0.5 McFarland *Escherichia coli* bulunmaktadır.
2. 9 ml serum fizyolojik içine 1 ml *E. coli* eklenerek  $10^{-1}$  seyrelti elde edildi.
3. 9 ml serum fizyolojik içine 2. tüpten 1 ml *E. coli* eklenerek  $10^{-2}$  seyrelti elde edildi.
4. 9 ml serum fizyolojik içine 3. tüpten 1 ml *E. coli* eklenerek  $10^{-3}$  seyrelti elde edildi.
5. 9 ml serum fizyolojik içine 4. tüpten 1 ml *E. coli* eklenerek  $10^{-4}$  seyrelti elde edildi.
6. 10 ml serum fizyolojik ilave edildi.

Hazırlanan örnekler daha önce Etilen oksit ile steril edilmiş parfüm şişelerine ayrı ayrı konuldu. Parfüm şişeleri herbir püskültmede yaklaşık 0,133 ml sıvı püskültmektedir. Biz herbir ölçümde 3 defa püskültme yaptık (yaklaşık 0.4 ml) (Şekil 4.7).

Besi ortamı olarak ise 6 adet 90 mm 'lik petri kaplarına deney için daha önce hazırlanan LB Agar konulmuştur.





(a)



(b)

Şekil 4.7. A) Bakterileri ortama püskürtebilmek için kullanılmış olan steril parfüm şişeleri B) Farklı *Escherichia coli* derişimleri sahip olan parfüm şişeleri

#### Deneyin Yapılması;

- Deney Laminar Flow içerisinde gerçekleştirilmiştir.
- İlk olarak 6 nolu hazırlanan  $10^{-5}$  seyreltideki örnek 3 defa ortama püskültürmüştür. Ortam içindeki fan 20 sn çalıştırılarak ortama yayılması sağlanmıştır. Sonrasında mikrobiyal hava örnekleyci 18-20 sn çalıştırıldı (Ortam 30 lt olduğundan ve cihazın nominal hava akışı 100 lt/dk olduğundan).
- Aynı işlemler  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-1}$  seyreltideki örnekler içinde sırası ile tekrarlanmıştır.
- Son olarak 10 ml 0.5 Mc farland *Escherichia coli* için işlem tekrarlanmıştır.
- Her işlemde petri kapları değiştirilmiştir.
- Son olarak petri kapların 24-48 saat boyunca  $37^{\circ}$  C'da inkübasyonu gerçekleştirilmiştir.

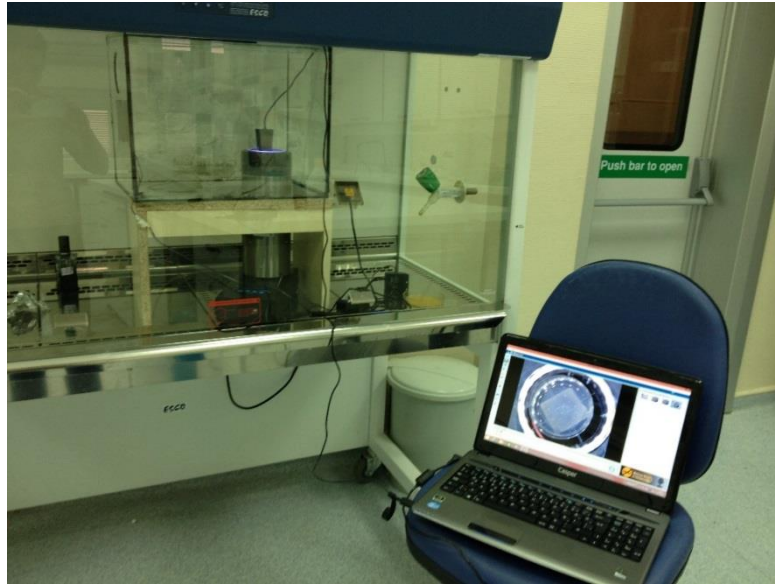
#### 4.5. Mikrobiyal Hava Örnekleyici ve İnkübatör Sistemi Kullanımı

Bu çalışmada son olarak tasarladığımız Şekil 3.12'de görülen hava örnekleme ve inkübatör sistemi denenmiştir. Burada önceki çalışmalarımızda kullandığımız hava örnekleme cihazımıza inkübasyon işlemini yapabilmesi için kültür ortamını içeren petri kutunun hemen altında peltier adı verilen termoelektrik modül ekledik. Böylece toplama işlemini ve inkübasyon işlemini eşzamanlı olarak yapmayı planladık.

##### 4.5.1. Deneysel Çalışmada Kullanılan Cihaz, Malzeme ve Yöntemler

Tasarladığımız cihaz 100 lt/dak. akış hızında ortamdaki havayı impaction yöntemi ile toplayan ve sonrasında belirlenen sıcaklıkta inkübe eden sistemimiz kullanılmıştır. Ayrıca son tasarladığımız sisteme eklemiş olduğumuz kamera ile toplama ve inkübasyon işlemleri boyunca kayıt alınması sağlanmıştır.

Bu çalışmada ortam olarak bir önceki çalışmamızda kullandığımız kapalı bir ortamı simüle eden 30 lt hacme sahip cam hazne kullanılmıştır (Şekil 4.8). Deney Laminar Flow içerisinde gerçekleştirilmiştir.



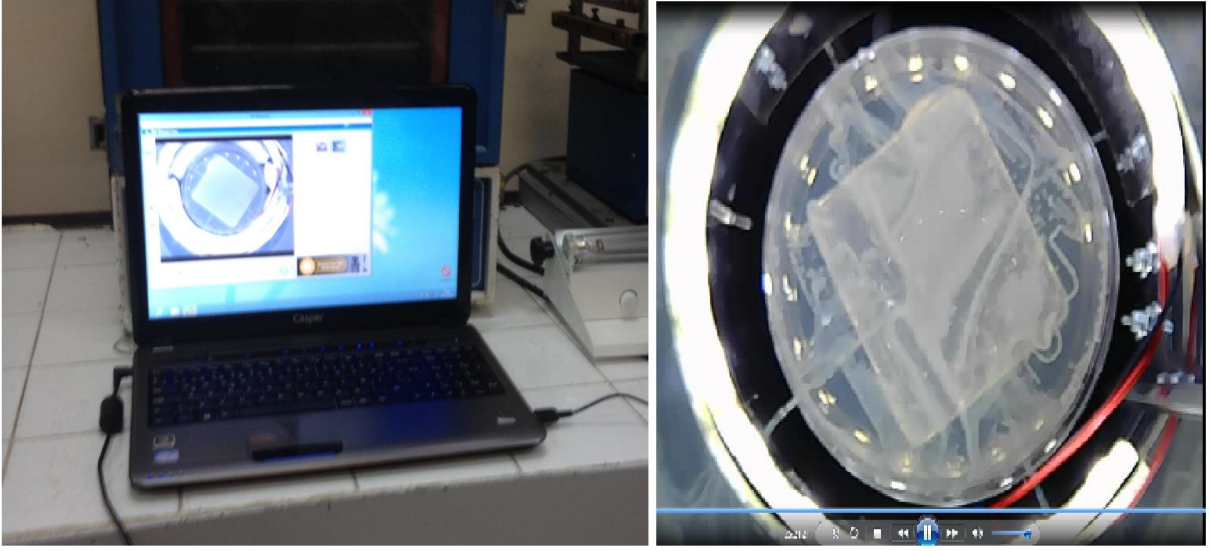
Şekil 4.8. Çalışmanın yapıldığı deney düzeneği

Deneysel çalışmamızda 0.5 McFarland *Escherichia coli* çözültisi kullanılmış olup hazırlanan örnek daha önce Etilen oksit ile steril edilmiş parfüm şişesine konuldu. Parfüm şişeleri herbir püskültmede yaklaşık 0,133 ml sıvı püskültmektedir. Burada herbir ölçümde 3 defa püskültme yapılmıştır (yaklaşık 0.4 ml).

Besi ortamı olarak ise 90 mm 'lik petri kabına deney için daha önce hazırlanan Mueller-Hinton Agar dökülmüştür.

Çalışmada daha öncekilerden farklı olarak inkübasyon işlemi cihaz içinde yapılacağından ve inkübasyon boyunca kayıt alınabileceğinden standart toplama süresi dışında toplama süreleri uzatılarak toplama boyunca koloni oluşumlarını gözlemlenmek istedik. Ancak bilindiği gibi örnekleme esnasında çarptırılan hava bir süre sonra besiyerinin yüzeyinin kurummasına neden olur. Bu durumda mikroorganizmanın tutulması tam olmayacak veya inkübasyon esnasında mikroorganizmanın gelişmesini sürdürmesi için gerekli suyun besiyerinden uzaklaşması söz konusu olacaktır. Bu durum da sonuçlar yanıltıcı olur. Bu nedenle besiyerinin kurumaması ve koloni oluşumunun sağlanabilmesi için Petri kutusuna besiyeri dökülmeden önce altına yüksek su tutma kapasitesine sahip olmasından dolayı sodyum alginat çözültisi ve Sodyum alginatın jelleştirici çözültisi olan kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) eklenmiştir. Alginat, üç farklı kahverengi deniz yosunundan (*Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* ve *Macrocystis pyrifera*) ve bakterilerden (*Azotobacter vinelandii* ve *Pseudomonas*) elde edilen,  $\beta$ -D-mannuronik asit (M) ve  $\alpha$ -L-guluronik asit (G) monomerlerinden oluşan lineer bir polisakkarittir (1,4-bağlı  $\beta$ -D mannuronik asit ve 1,4-bağlı  $\alpha$ -L-guluronik asit heteropolimeri). Alginatın, hidrofilik olması, organik çözücülere gerek duyulmadan hücreler için ılıman koşullarda matris yapıların oluşturulması, geniş gözenek boyutuna sahip olmasından dolayı difüzyon kısıtlamasının az olması, istenilen durumlarda çeşitli modifikasyonlarla gözenek büyüklüğünün ayarlanabilmesi, biyoyumlu ve biyobozunur özellikleri nedeniyle ilaç vb. salım uygulamalarında, implantasyon ve hücre enkapsülasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca su tutucu, jel oluşturucu, viskoziteyi arttırıcı ve stabilize edici özelliklerinden dolayı da birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır[97].

Burada % 1.0 sodyum alginat serum fizyolojikte (% 0.85 g/dL NaCl) çözdürülerek Sodyum alginat çözeltisi hazırlandı. Petri kapa dökülen çözeltinin üzerine Sodyum alginatın jelleştirici çözeltisi olan kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ), %5 oranında serum fizyolojikte hazırlanarak damla damla enjektörle eklendi. Çözeltinin katılaşması beklendi. Katılaşma sonrası ortamdaki fazla su alınarak üzerine önceden hazırlanan Mueller Hinton Agar döküldü.

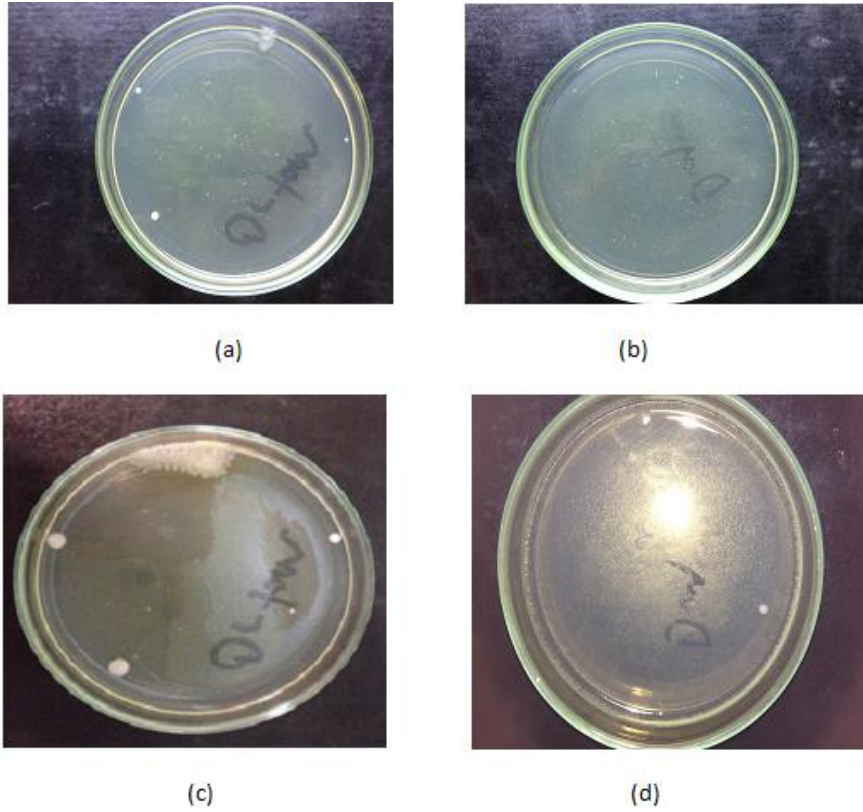


Şekil 4.9. Sistemden alınan kamera görüntüleri

## 5. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

### 5.1. Koloni Sayım Yöntemi Ve Partikül Sayımı Yöntemi Kullanılarak Hava Örneklemesi

Koloni sayım yöntemlerinden pasif hava örnekleme ve aktif hava örnekleme yöntemleri ile yapılan hava örnekleme sonrasında besiyeri içeren petri kaplarımız 24-48 saat inkübe edilmiştir (Şekil 5.1).

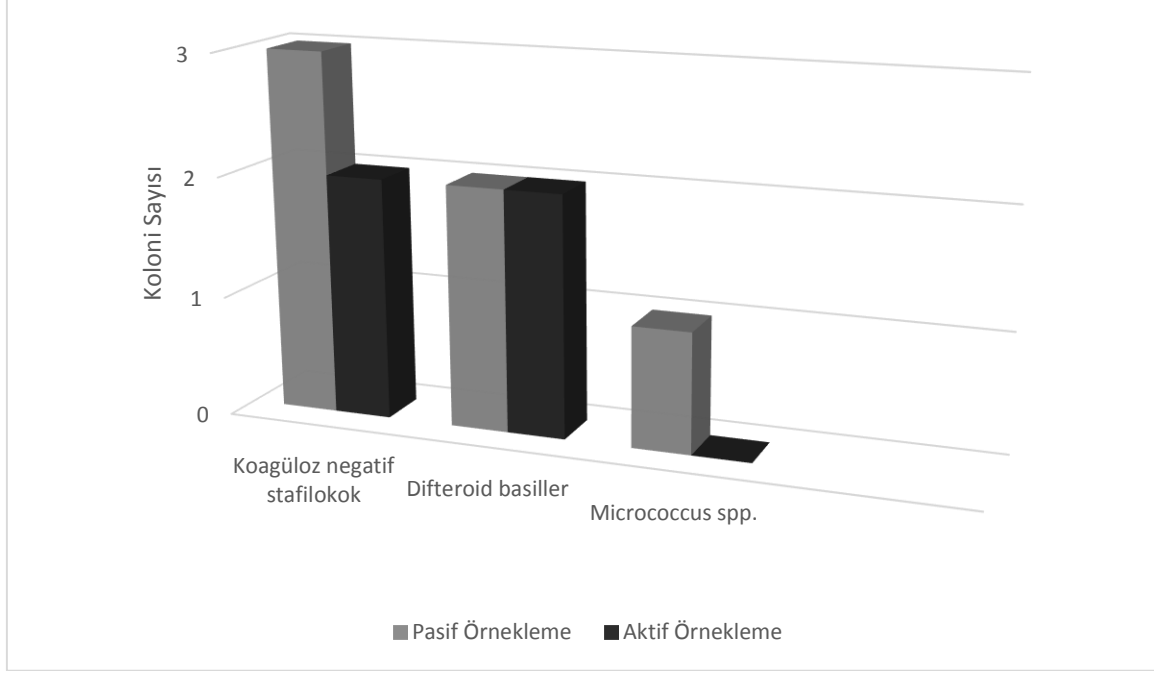


Şekil 5.1. 24 saat sonra, a) Aktif Hava Örneklemesi b) Pasif Hava Örneklemesi  
48 saat sonra, c) Aktif Hava Örneklemesi d) Pasif Hava Örneklemesi

İnkübasyon sonrası;

Pasif Örnekleme ile; 3 adet *Koagüloz negatif stafilokok*, 2 adet *Difteroid basiller*, 1 adet *Micrococcus spp.* üredi. Mikrobiyal hava örnekleme cihazı (Aktif Örnekleme) ile; 2 adet *Koagüloz negatif stafilokok*, 2 adet *Difteroid basiller* üredi (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1. Örnekleme Sonuçları



Pasif örnekleme yönteminde farklı çaplarda petri kapların kullanımı, petri kabın bırakıldığı yerlerdeki farklılık, farklı sürelerde bırakılması, besiyerinin ve inkübasyon sıcaklık ve sürelerinin farklılığından dolayı elde edilen verileri karşılaştırmak zordur. Bu sebepten dolayı elde edilen verilerle sınıflandırma yapmak zordur[89].

Pasif örneklemede ilk standartlaşma çalışmasını Fisher tarafından 1970'li yıllarda yapılmıştır. Buna göre içinde kanlı agar bulunan 9 cm çapında petri kaplar 37° C'de 24 saat inkübasyon işlemi sonrasında elde edilen sonuçlar cfu/dm<sup>2</sup> belirlenmesidir. Burada petri kap 1 saat boyunca açık bırakılmakta olup yerden 80-100 cm, duvardan 100-150 cm uzaklıkta bırakılması esastır. Sonuç toplam mikrobiyal sayım ('Gesamtkeimzahl') olarak ifade edilir. Dolayısı ile 1/1/1 planı mikrobiyal hava kirliliğini ölçmek için bir standart olarak geliştirildi. Buradaki 1/1/1 ifadesinin anlamı petri kabın 1 saat boyunca duvardan ve yerden 1 m uzaklığa yerleştirilmesidir [90,91,92]. Fisher sonrasında

biyokontaminasyonun sınıflandırılması için hastanenin çeşitli bölgelerine göre kabul edilebilir ve edilemez sınırları belirlendi (Çizelge 5.2) [92]. Petri yerleştirme ile mikrobiyal hava kontaminasyonunu ölçmek petri kapların nasıl konulacağı ve sonuçların nasıl değerlendirileceği konusunda rasyonel bir tanımlama olmadan bazı resmi standartlarda uygulanır.

Çizelge 5.2.Fisher'e göre farklı hastane çevresinde havadaki toplam mikrobiyal sayımı

**Table IV** Air total microbial count ('Gesamtkelmzahl') according to Fisher in different hospital environments (cfu on Petri dishes 9 cm in diameter, with blood-agar, left open to air according to the scheme 1/1/1)<sup>70</sup>

Place	Total microbial count (cfu/dm <sup>2</sup> /h) (‘Gesamtkelmzahl’)		
	Optimal	Acceptable	Not acceptable
Medical wards	0-450	451-750	>751
Surgery	0-250	251-450	>451
Pharmacy	0-100	101-180	>181
Aseptic room	0-50	51-90	>91
Operating theatre (at rest)	0-4	5-8	>9
Operating theatre (in activity)	0-60	61-90	>91

Fisher'in çalışmaları sonucu 1978 yılında petri açma yöntemi ile yapılan hava örnekleme işlemini standartlaştırmak için Mikrobiyal Hava Kirliliği Endeksini (Index of Microbial Air Contamination /IMA) geliştirildi. Bu indeks 9 cm çapında bir petri kapın 1/1/1 planına göre (1 saat süre ile, yaklaşık yerden 1 m, duvar veya herhangi bir engelden 1 m uzaklıkta ) yerleştirilmesine karşılık gelir. Sonuçların hesaplanması kob/m<sup>2</sup>/saat olarak verilir[13].

Buna göre yapılan pasif örneklemede ortamın toplam mikrobiyal sayımı;

$$\text{Toplam mikrobiyal sayım} = \text{Oluşan Koloni Sayısı} / \text{Petri kutu alanı} / \text{Süre'den}$$

$$\text{Oluşan koloni sayısı} = 6,$$

$$\text{Petri kutu çapı} = 9 \text{ cm},$$

Toplam mikrobiyal sayım =  $6 / \pi(0.045\text{m})^2/1 = 943.1 \text{ kob/ m}^2/\text{saat} = 9.431 \text{ kob/dm}^2/\text{saat}$  bulunur. Bu değer Çizelge 5.2'e göre değerlendirildiğinde ölçüm yapılan yoğun bakım ünitesi için iyi bir değerdir.

Aktif örneklemede tasarladığımız ve Çizelge 4.1'de teknik özellikleri belirtilen mikrobiyal hava örnekleyici kullanıldığından 100lt/dak akış hızı ile emiş yapılmış olup pasif örnekleme ile aynı yerde yapılmıştır. Cihaz 1 dakika çalıştırılmış olup toplanan hacim  $100\text{lt}=0.1 \text{ m}^3$ dür. Ortamın toplam mikrobiyal sayımı;

Toplam mikrobiyal sayısı = Oluşan Koloni Sayısı/Örneklenen havanın hacmi'den

Toplam bakteri sayısı =  $4/0.1 = 40 \text{ kob/m}^3$  bulunur.

Birçok çalışmada aktif hava örnekleme ( $\text{kob/m}^3$ ) ile pasif hava örnekleme(IMA) sonucu bulunan mikrobiyal yük değerlerini karşılaştırmaya çalışmıştır. Ancak her ne kadar bazı durumlarda belirli bir korelasyon görünse de sonuçların çoğu tutarsızdır[93,94,95]. Hava örnekleme protokolleri standart değildir bu sebepten farklı çalışmalarda sonuçları karşılaştırmak zordur. Hatta aynı zamanda ve aynı yerde farklı aktif örnekleme cihazı ile yapılan örneklemelemlerde farklılıklar olmaktadır.

Çizelge 5.3'de çeşitli standartlara göre mikrobiyal kontaminasyon sınıflandırılması arasındaki korelasyon gösterilmiştir[13].

Çizelge 5.3. Çeşitli standartlara göre mikrobiyal kontaminasyon sınıflandırılması arasındaki korelasyon

**Table XII** Correlation among the microbial contamination classes suggested by the US FS 209E, the NASA, the EU GMP, the IMA and the ISO, based on cfu/m<sup>3</sup> and settle plates

EU GMP* grades	FS209E† classes	NASA‡		EU GMP* cfu/m <sup>3</sup>		IMA§ s.p.††	ISO¶
		cfu/m <sup>3</sup>	s.p. II	cfu/m <sup>3</sup>	s.p.**		
A	100	3.5	0.6	< 1	< 0.25	0	5
B	100	3.5	0.6	10	1.25	5	5
C	10 000	17.6	3.0	100	12.50	–	7
D	10 000 00	88.4	15.0	200	25	25	8

\*European Union Good Manufacturing Practice;

† Federal Standard for air contamination by inert particles;

‡ National Aeronautics and Space Administration;

§ Index of microbial air contamination;

¶ International Organization for Standardization;

II Settle plates 73.5 cm<sup>2</sup> wide exposed to air for 1 h;

\*\* cfu on settle plates 9 cm in diameter expected after 1 h exposure, calculated from the results obtained by settle plates exposed for 4 h;

†† cfu counts on settle plates 9 cm in diameter exposed to air for 1 h.



Partikül ölçüm sonucu alınan değerlerin çıktıları Şekil 5.2'de görünmektedir. ISO 14644-1: Bölüm 1: Hava Temizliğinin Sınıflandırılması (Classification of air cleanliness) standardına göre yapılan ölçümlerin 0.5  $\mu$ 'daki değerlerinin aritmetik ortalaması alınarak ortamın standartlara uygun olup olmadığı belirlenir [65]. Burada yapılan ölçümlerde 0.5  $\mu$ 'da en yüksek değer 518 partikül/ft<sup>3</sup> (18303,9 partikül/m<sup>3</sup>) olduğu görünmektedir ki bu değer Çizelge 2.2'de verilen US 209 E standardına göre değerlendirildiğinde M4.5 (1000) sınıfına karşılık gelmektedir. Çizelge 2.3'de bulunan ISO 14644'e göre değerlendirildiğinde ISO Sınıf 6'a karşılık gelmektedir.

$\mu$	$\Delta$	$\Sigma$
0.3	562	922
0.5	169	360
1.0	146	191
5.0	31	45
10.0	14	15
25.0	1	1

$\mu$	$\Delta$	$\Sigma$
0.3	1538	2056
0.5	331	518
1.0	141	187
5.0	32	46
10.0	12	14
25.0	2	2

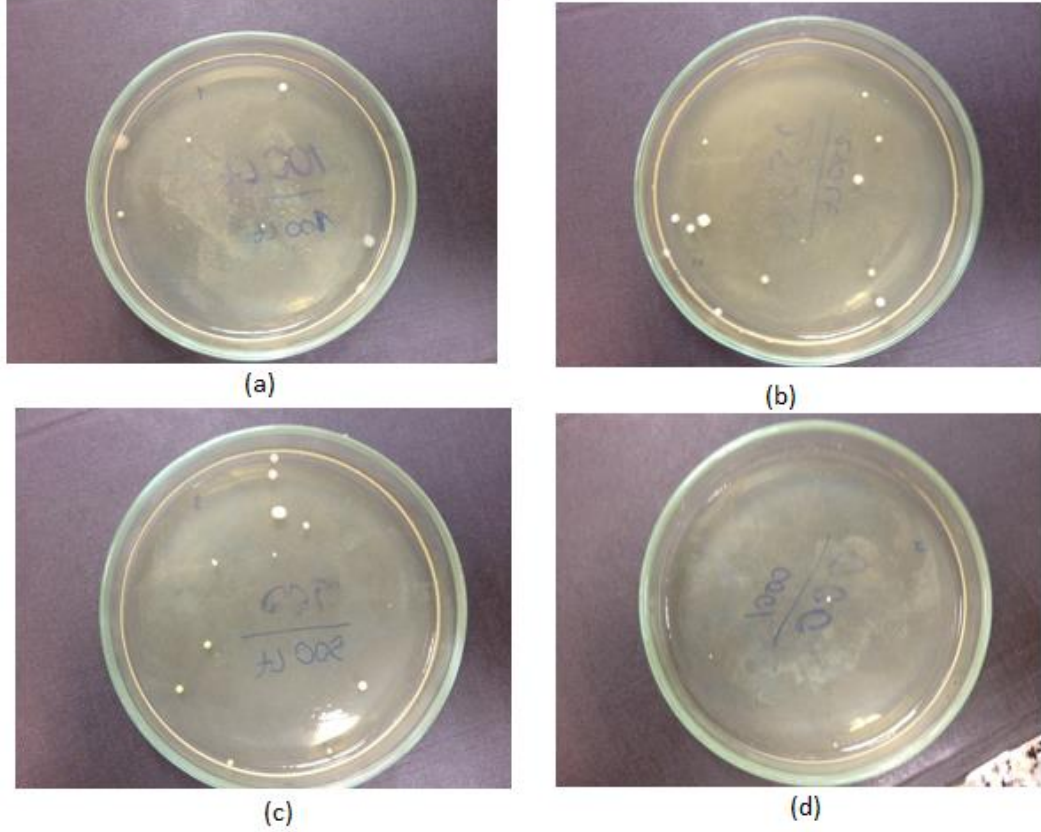
$\mu$	$\Delta$	$\Sigma$
0.3	940	1337
0.5	242	397
1.0	118	155
5.0	28	37
10.0	8	9
25.0	1	1

Şekil 5.2. Partikül Ölçüm Sonuçları

Pasif örnekleme, aktif örnekleme ve partikül sayımı yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmada alınan sonuçlar, mikrobiyal kontaminasyon sınıflandırılmasında kullanılan farklı standartlar arasındaki korelasyonunu gösteren Çizelge 5.3 ile uyumlu olduğu görülmektedir.

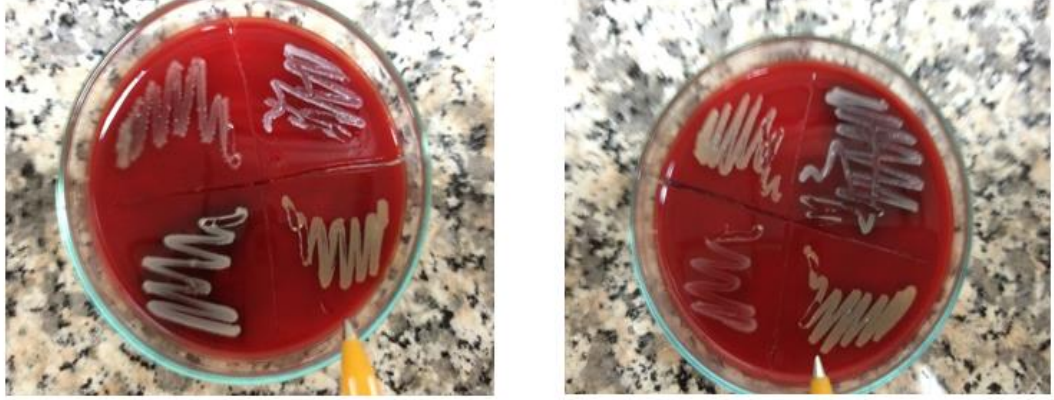
## 5.2. Mikrobiyal Hava Örneklemesi Cihazı ile Farklı Örneklemesi Hacimlerinde Örneklemesi

Mikrobiyal hava örneklemesi cihazı ile 100 lt/dk akış hızı ile impaction yöntemi kullanılarak besiyeri üzerine sırası ile 100-250-500-1000 lt hava çarptırılması sonrasında etüv cihazında 48 saat boyunca 37<sup>0</sup> C'da inkübasyonu gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.3'de inkübasyon sonrası petri kaplar görülmektedir.



Şekil 5.3. 48 saat sonra a) 100 lt, b) 250 lt, c) 500 lt, d)1000 lt hacimlerinde örneklemesi

Koloniler (farklı olanlar), kanlı ve EMB besiyerine yeniden ekildi. Katalaz ve koagülaz testleri yapıldı (Şekil 5.4).



Şekil 5.4. Koloniler kanlı ve EMB besiyerine yeniden ekilmesi

Çalışma sonrası;

100 lt'de 7 koloni oluştu, 1 koloni *S. aureus*, 6 koloni *Koagülaz negatif stafilokok* (KNS),

250 lt'de 13 koloni oluştu, tamamı KNS,

500 lt'de 11 koloni oluştu, tamamı KNS,

1000 lt'de 3 koloni oluştu, tamamı KNS tespit edilmiştir.

Burada her bir örnekleme hacmi için toplanan bakteri sayısı;

Toplam bakteri sayısı = Oluşan Koloni Sayısı/Örneklenen havanın hacmi eşitliğinden hesaplanır. Buna göre,

100 lt'de toplam bakteri sayısı =  $7/0.1 = 70 \text{ kob/m}^3$ ,

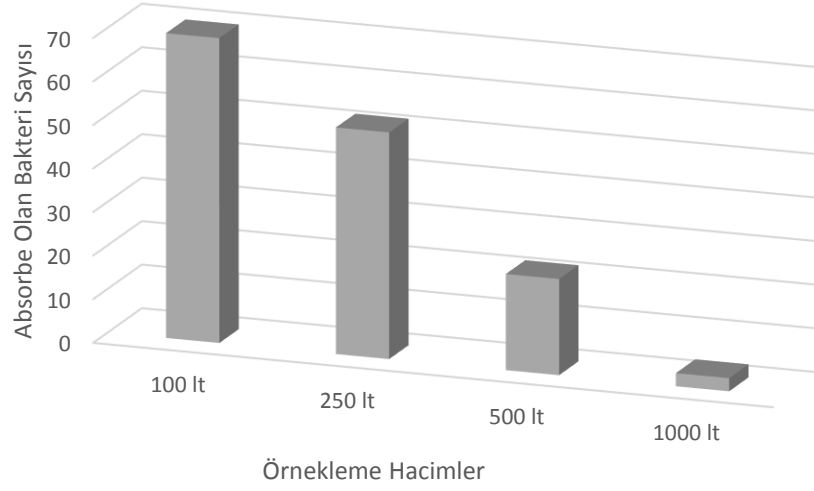
250 lt'de toplam bakteri sayısı =  $13/0.25 = 52 \text{ kob/m}^3$ ,

500 lt'de toplam bakteri sayısı =  $11/0.5 = 22 \text{ kob/m}^3$ ,

1000 lt'de toplam bakteri sayısı =  $3/1 = 3 \text{ kob/m}^3$  bulunur.

Çizelge 5.4'de farklı hacimlerde yapılan örnekleme sonrası elde edilen toplam bakteri sayısı gösterilmiştir.

Çizelge 5.4. Farklı Hacimlerde Yapılan Örnekleme Sonuçları



Çizelge 5.4'de görüldüğü gibi örnekleme hacmi arttıkça toplam bakteri sayısında azalmalar görünmüştür. Nesa ve arkadaşları tarafından farklı aktif örnekleme sistemleri ile yapılan ölçümlerde de aynı tespitler yapılmıştır[94]. Burada örnekleme hacminin artmasına bağlı olarak örnekleme süresinin uzaması nedeni ile besiyerinde su kaybının olması ve yüksek stres sebebi ile koloni oluşmaması neden olmuştur.

Partikül ölçüm sonucu alınan değerlerin çıktıkları Şekil 5.5'de görünmektedir. Burada yapılan ölçümlerde 0.5  $\mu$ 'da en yüksek değer 664 partikül/ft<sup>3</sup> (23462,9 partikül/m<sup>3</sup>) olduğu görünmektedir ki bu değer Çizelge 2.2'de verilen US 209 E standardına göre değerlendirildiğinde M4.5 (1000) sınıfına karşılık gelmektedir. Çizelge 2.3'de bulunan ISO 14644'e göre değerlendirildiğinde ISO Sınıf 6'a karşılık gelmektedir.

Sample Status: Valid  
Particle Data  
Normalized Counts (N/cf)

$\mu$	$\Delta$	$\Sigma$
0.3	395	402
0.5	150	
1.0	197	
5.0	31	56
10.0	22	25
25.0	3	3

1.77 cf 1.766 cf/min

Sample Status: Valid  
Particle Data  
Normalized Counts (N/cf)

$\mu$	$\Delta$	$\Sigma$
0.3	388	1032
0.5	242	
1.0	307	422
5.0	61	115
10.0	48	54
25.0	6	6

1.77 cf 1.766 cf/min

Sample Status: Valid  
Particle Data  
Normalized Counts (N/cf)

$\mu$	$\Delta$	$\Sigma$
0.3	469	1057
0.5	252	588
1.0	255	336
5.0	34	82
10.0	41	48
25.0	6	6

1.77 cf 1.766 cf/min

Şekil 5.5. Partikül Ölçüm Sonuçları

Yapılan çalışmada aktif örnekleme ve partikül sayımı yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmada alınan sonuçlar, mikrobiyal kontaminasyon sınıflandırılmasında kullanılan farklı standartlar arasındaki korelasyonunu gösteren Çizelge 5.3 ile uyumlu olduğu görülmektedir.

### 5.3. Mikrobiyal Hava Örnekleme Cihazı Kullanılarak Impaction (Çarpıtırma) ve Filtrasyon Yöntemi ile Örnekleme Yapma

Aktif hava örneklemede kullanılan impaction yöntemi ve filtrasyon yöntemini karşılaştırmak amacı ile yapılan çalışma sonrası;

100 lt'de Impaction yönteminde 1 koloni oluştu, Filtrasyon yönteminde koloni oluşmadı.

250 lt'de Impaction yönteminde 2 koloni, Filtrasyon yönteminde 1 koloni oluştu, tamamı *Koagülaz negatif stafilokok* (KNS).

500 lt'de Impaction yönteminde 3 koloni, Filtrasyon yönteminde 2 koloni oluştu, tamamı KNS.

1000 lt'de Impaction ve Filtrasyon yönteminde koloni oluşmadı.

Burada her bir örnekleme hacmi için toplanan bakteri sayısı;

Toplam bakteri sayısı = Oluşan Koloni Sayısı/Örneklenen havanın hacmi, eşitliğinden hesaplanır. Buna göre Impaction yönteminde,

$$100 \text{ lt'de toplam bakteri sayısı} = 1/0.1 = 10 \text{ kob/m}^3.$$

$$250 \text{ lt'de toplam bakteri sayısı} = 2/0.25 = 8 \text{ kob/m}^3.$$

$$500 \text{ lt'de toplam bakteri sayısı} = 3/0.5 = 6 \text{ kob/m}^3.$$

$$1000 \text{ lt'de toplam bakteri sayısı} = 0/1 = 0 \text{ kob/m}^3 \text{ bulunur.}$$

Filtrasyon Yönteminde,

$$100 \text{ lt'de toplam bakteri sayısı} = 0/0.1 = 0 \text{ kob/m}^3.$$

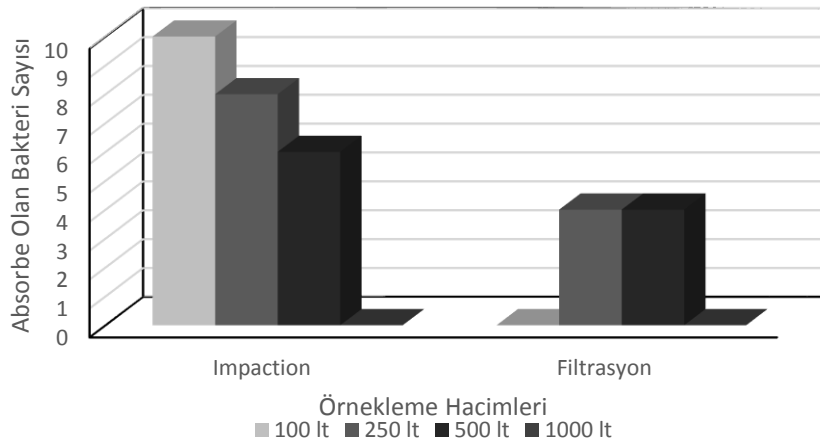
$$250 \text{ lt'de toplam bakteri sayısı} = 1/0.25 = 4 \text{ kob/m}^3.$$

$$500 \text{ lt'de toplam bakteri sayısı} = 2/0.5 = 4 \text{ kob/m}^3.$$

$$1000 \text{ lt'de toplam bakteri sayısı} = 0/1 = 0 \text{ kob/m}^3 \text{ bulunur.}$$

Çizelge 5.5'de farklı hacimlerde yapılan örnekleme sonrası elde edilen toplam bakteri sayısı gösterilmiştir.

Çizelge 5.5. Impaction ve Filtrasyon Yöntemleri Kullanılarak Yapılan Örnekleme Sonuçları



Partikül ölçüm sonucu alınan değerlerin çıktıları Şekil 5.6'de görünmektedir. Burada yapılan ölçümlerde 0.5  $\mu$ 'da en yüksek değer 46 partikül/ft<sup>3</sup> (1625,442 partikül/m<sup>3</sup>) olduğu görünmektedir ki bu değer Çizelge 2.2'de verilen US 209 E standardına göre değerlendirildiğinde M3.5 (100) sınıfına karşılık gelmektedir. Çizelge 2.3'de bulunan ISO 14644'e göre değerlendirildiğinde ISO Sınıf 5'e karşılık gelmektedir.

Particle Data			
Normalized Counts (N/cf)			
$\mu$	$\Delta$	$\Sigma$	
0.3	46	92	
0.5	18	46	
1.0	23	28	
5.0	4	6	
10.0	1	2	
25.0	1	1	
00:01:00 1.766 cf/min			

Sample Status:Valid			
Particle Data			
Normalized Counts (N/cf)			
$\mu$	$\Delta$	$\Sigma$	
0.3	35	79	
0.5	16	45	
1.0	20	28	
5.0	3	8	
10.0	5	5	
25.0	1	1	
00:01:00 1.766 cf/min			

Sample Status:Valid			
Particle Data			
Normalized Counts (N/cf)			
$\mu$	$\Delta$	$\Sigma$	
0.3	35	77	
0.5	16	42	
1.0	16	27	
5.0	5	10	
10.0	5	6	
25.0	1	1	
00:01:00 1.766 cf/min			

Şekil 5.6. Partikül Ölçüm Sonuçları

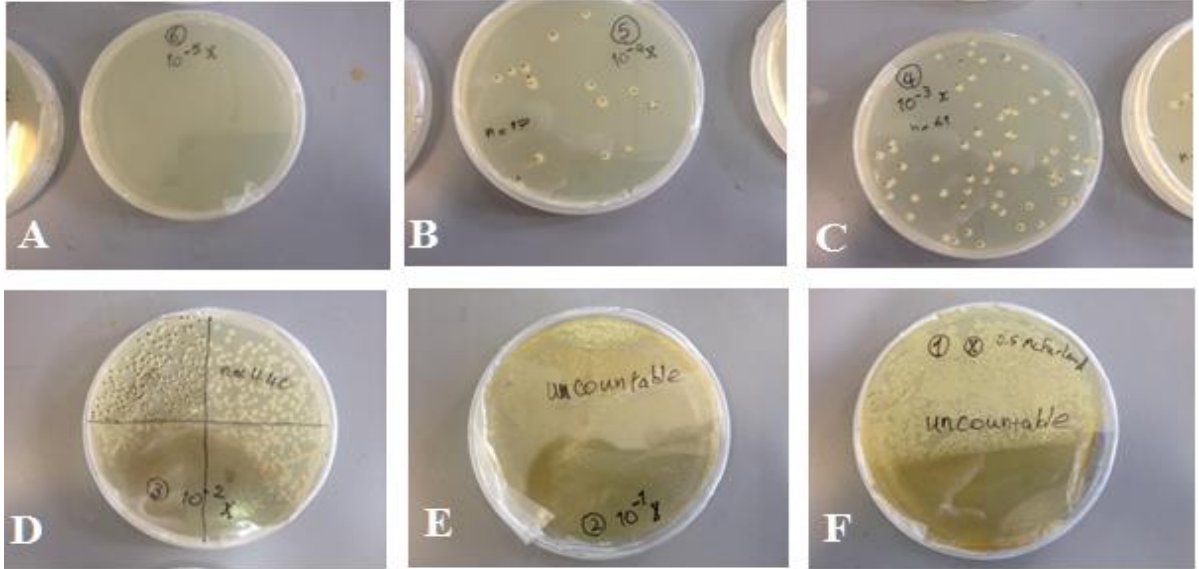
Bu çalışma diğer çalışmalarımızı yaptığımız temiz odalardan çok daha temiz (46 partikül/ft<sup>3</sup>) olması nedeni ile her iki örnekleme yönteminde toplam bakteri sayısının az olması normaldir. Aktif örnekleme ve partikül sayımı yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmada alınan sonuçlar, mikrobiyal kontaminasyon sınıflandırılmasında kullanılan farklı standartlar arasındaki korelasyonunu gösteren Çizelge 5.3 ile uyumlu olduğu görülmektedir. Ancak burada impaction yöntemi ile filtrasyon yöntemini karşılaştırdığımızda filtrasyon yönteminde yeterli toplama verimliliği sağlanamadığı görülmektedir. Yapılan çalışmalarda da impaction yönteminin havada bulunan

bioaresol sayısının düşük olduğu düşünölen zamanlarda kullanılan, diğer tespit etme metotlarına göre daha yüksek oranda tespiti sağlayan bir yöntem olduğu görölmüştür. Filtrasyon yöntemi ise özellikle polenleri, mantar sporlarını ve tozları toplamada daha çok tercih edilmektedir [15,26].

Ayrıca burada da bir önceki örneklemede gördüğümüz gibi örnekleme hacmi arttıkça besiyerinde meydana gelen su kaybından ve toplama süresi boyunca bakterinin maruz kaldığı yüksek stres sebebi ile toplam bakteri sayısında azalmalar görönmüştür.

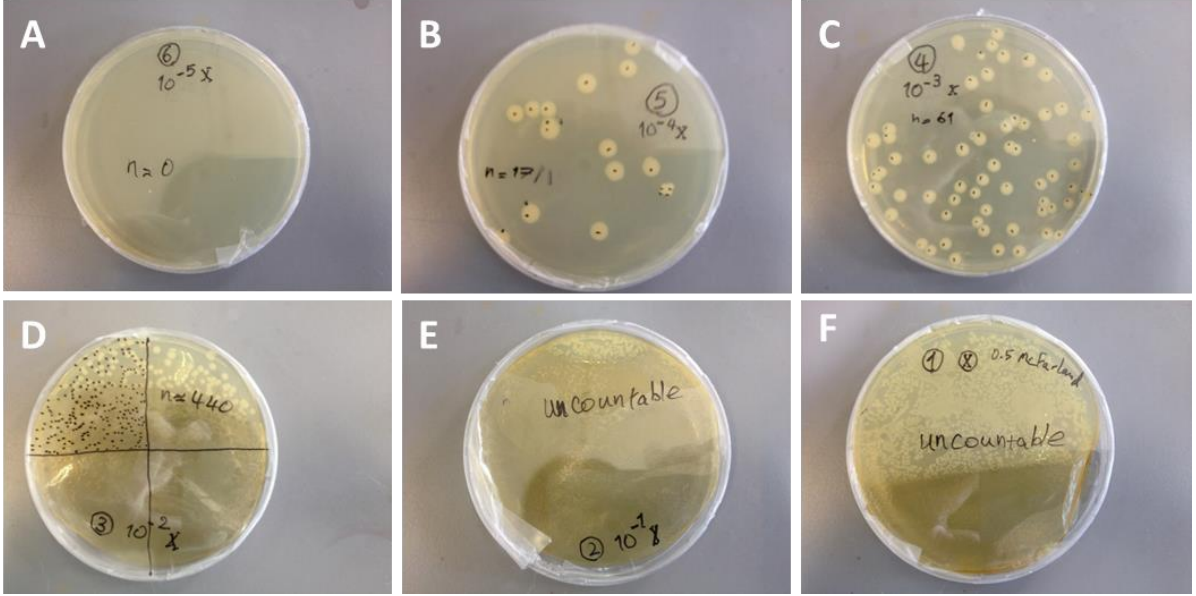
#### 5.4. Mikrobiyal Hava Örnekleyci Cihazının Oluşturulan Kapalı Ortamda Çalışması

Mikrobiyal hava örnekleyci cihazımızın toplama verimliliğini ölçmek amacı ile 10 ml 0.5 Mc farland *Escherichia coli* den farklı seyreltide ( $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^0$ ) elde edilen solüsyonun 30 lt ölçüsünde bir ortama püskürtmesi ile yapılan çalışmada herbir seyrelti için toplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Besiyeri içeren petri kaplarda inkübasyon sonrası koloni sayımı yapılmıştır. (Şekil 5.7, Şekil 5.8)



Şekil 5.7. 24 saat sonra, a) 6 nolu petri kaptaki koloni oluşmadı, b) 5 nolu petri kaptaki 17 koloni oluştu, c) 4 nolu petri kaptaki 61 koloni oluştu, d) 3 nolu petri kaptaki yaklaşık 440 koloni oluştu, e) 2 nolu petri kap uncountable, f) 1 nolu petri kap uncountable.





Şekil 5.8. 48 saat sonra, a) 6 nolu petri kapta 2 koloni oluştu, b) 5 nolu petri kapta 19 koloni oluştu, c) 4 nolu petri kapta 62 koloni oluştu, d) 3 nolu petri kapta yaklaşık 440 koloni oluştu, e) 2 nolu petri kap uncountable, f) 1 nolu petri kap uncountable.

Petride sayılan kolonilerden absorbe olan bakteri sayısını hesaplamak için,

$$\text{Absorbe olan bakteri sayısı (kob/ml)} = \frac{\text{Koloni Sayısı} \times \text{Seyreltme Faktörü}}{\text{Dilüsyon tüpünden ortama püskültüren hacim}}$$

Koloni sayısı = Petride okunan koloni sayısı

Seyreltme Faktörü = 1/Seyreltme oranı

Dilüsyon tüpünden ortama püskültüren hacim = 0.4 ml (Parfüm şişeleri her bir püskültmede yaklaşık 0,133 ml sıvı püskültmektedir. Biz her bir ölçümde 3 defa püskültme yaptık bu sebepten ortama verilen miktar 0.4 ml olarak hesaplanmıştır)[97].

Çizelge 5.6'da 24 ve 48 saat sonunda farklı dilüsyonlarda absorbe edilen bakteri sayısı tablo halinde verilmiştir.

Çizelge 5.6. 24 ve 48 saat sonunda cihaz ile absorbe edilen bakteri sayısı

	Dilutions	Koloni sayısı /24 saat	Absorbe olan bakteri sayısı/24 saat	Koloni sayısı /48 saat	Absorbe olan bakteri sayısı/48 saat
1	0.5 McFarland	uncountable	.....	uncountable	.....
2	1/10 (0.5 McFarland)	uncountable	.....	uncountable	.....
3	1/100 (0.5 McFarland)	440	$1.1 \times 10^5$ kob/ml	440	$1.1 \times 10^5$ kob/ml
4	1/1.000 (0.5 McFarland)	61	$1.5 \times 10^5$ kob/ml	62	$1.6 \times 10^5$ kob/ml
5	1/10.000 (0.5 McFarland)	17	$4.3 \times 10^5$ kob/ml	19	$4.8 \times 10^5$ kob/ml
6	1/100.000 (0.5 McFarland)	0	.....	2	$5 \times 10^5$ kob/ml

İstatistiksel bir kural olarak dökme ve yayma kültürel sayım yöntemlerinde bir petri kutusundaki koloni sayısının 30-300 arasında olması gerekir. Ardışık iki dilüsyonda petri kutularında 30-300 sınırına yakın değerler bulunabilir. Bu gibi durumlarda aritmetik ortalama alınır. 30'dan az ve ya 300'den fazla koloni sayılması durumunda eğer en yakın dilüsyondaki değer bu sınırın içinde ise bu değer kullanılır [98]. Bu kuralı bizim çalışmamızda dikkate aldığımız durumda  $10^{-2}$  dilüsyonda 440,  $10^{-4}$  dilüsyonda 17 koloni sayılması sebebi ile bu değerler dikkate alınmaz. Sayım sonucu olarak  $10^{-3}$  dilüsyonda elde edilen  $1.5 \times 10^5$  kob/ml değeri ortamdaki mikroorganizma sayısı olarak kabul edilir.

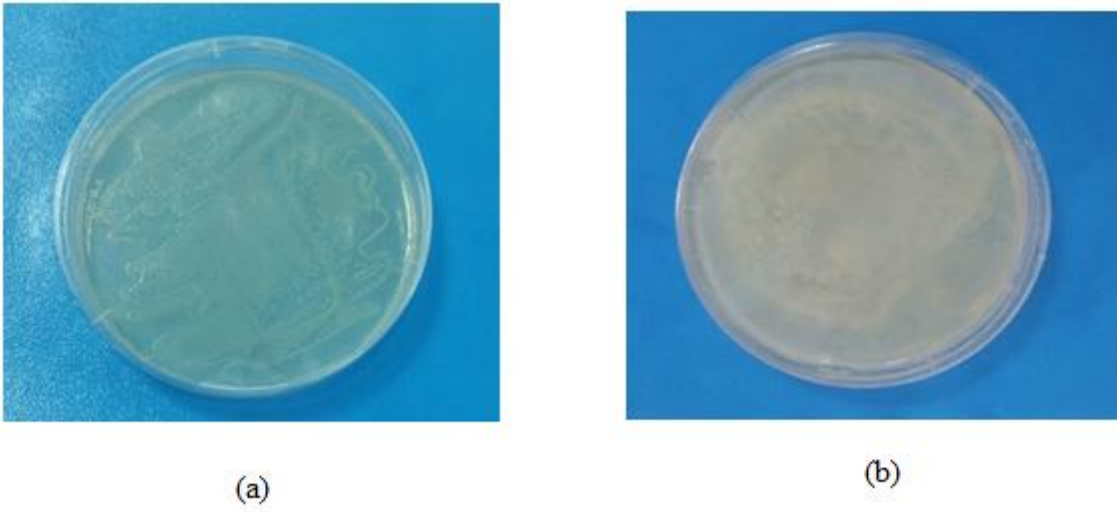
##### 5.5. Mikrobiyal Hava Örnekleyici ve İnkübatör Sisteminin Kullanımı

Mikrobiyal hava örnekleyici cihazımızın toplama ve inkübasyon verimliliğini ölçmek amacı ile yapılan çalışmada öncelikle ortamdaki havayı toplamak için toplama bölümü 1dk. çalıştırılmıştır. İnkübasyon bölümünde ise sıcaklık  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  ayarlanarak inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. 24 saat boyunca inkübasyon işlemi yapılmış ve bu süre boyunca koloni oluşumları kayıt altına alınmıştır. Sonuç olarak koloni oluşumu sağlanmış toplama ve inkübasyon işleminin başarılı olduğu gözlenmiştir (Şekil 5.9.a).

Sonrasında toplama süresini uzatarak cihazın toplama işlemini 1 dakika yapıp 1 saat dinlenmeye geçecek şekilde 24 saat boyunca tekrarlandı. Bu süre içinde cihazın inkübasyon işlemini yapabilmesi için sıcaklık  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de sabit tutuldu. Ancak örnekleme

esnasında çarptırılan hava bir süre sonra besiyerinin yüzeyinin kurumasına neden oldu. İnkübasyon esnasında mikroorganizmanın gelişmesini sürdürmesi için gerekli suyun besiyerinden uzaklaşmasından dolayı koloni oluşumu olmamıştır.

Besiyerinin kurumasını engellemek için petri kutuya Na-aljinat çözeltisine  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi eklenip üzerine Mueller-Hinton agar dökülmüştür. Çalışma cihazın toplama işlemini 1 dakika yapıp 1 saat dinlenmeye geçecek şekilde 24 saat boyunca tekrarlandı. Bu süre içinde cihazın inkübasyon işlemini yapabilmesi için sıcaklık  $37\text{ }^\circ\text{C}$ 'de sabit tutuldu. Yapılan çalışma sonrası besiyerinin kuruması engellenmiş ve koloni oluşumu sağlanmıştır(Şekil 5.9.b).



Şekil 5.9 Mikrobiyal Hava Toplayıcı ve İnkübasyon cihazından 24 saat sonra alınan sonuçlar a) 1 dak. toplama ve  $37\text{ }^\circ\text{C}$ 'de inkübasyon b) 24 saat boyunca 1 dak. toplama, 1 saat dinlenme ve  $37\text{ }^\circ\text{C}$ 'de inkübasyon

Havadaki mikroorganizmaların etkin biçimde analizleri birçok farklı kritere bağlıdır. Süre ve duyarlılık mikrobiyal test yöntemlerinin en önemli sınırlayıcı etkenleridir. Bu sebepten dolayı tasarlanan mikrobiyal hava toplayıcı ve inkübatör sistemi ile çok daha kısa sürede ve sabit, nominal akış hızı ile ortam havası toplanması sağlanmış böylece mikroorganizmaların stres altında olma gibi çeşitli nedenlerle koloni oluşturma yeteneklerini kaybetmesi engellenmiştir.

Uzun süreli örnekleme alınması gerektiği durumlarda örnekleme esnasında çarptırılan hava bir süre sonra besiyeri yüzeyinin kurummasına neden olduğundan, mikroorganizmanın tutulması tam olmamakta veya inkübasyon esnasında mikroorganizmanın gelişmesini sürdürmesi için gerekli suyun besiyerinden uzaklaşması söz konusu olmaktadır. Bu durum da sonuçlar yanıltıcı olmasına sebep olduğundan bu problemi çözmek için Petri kutusuna besiyeri dökülmeden önce altına yüksek su tutma kapasitesine sahip olmasından dolayı sodyum alginat çözeltisi ve Sodyum alginatın jelleştirici çözeltisi olan kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) eklenerek bu problemin çözülmesi sağlanmıştır.



Şekil 5.10. Mikrobiyal Hava Toplayıcı ve İnkübatör Sistemi

Piyasada bulunan aktif hava örnekleme cihazlarında havanın besiyerine çarptırılması sonrasında besiyeri içeren petri kaplar inkübasyon için etüv cihazına konulmaktadır. İnkübe işlemi sonrasında koloni sayımı ve mikroorganizma tanısı yapılmaktadır. Tasarlanan hava örnekleme cihazı ile inkübasyon işleminin aynı sistem içerisinde yapılması sağlanmıştır. Ayrıca mikrobiyal hava toplama ve inkübasyon işlemleri boyunca mikroorganizmaların gelişmelerini takip etmek amacı ile sistemimize kamera sistemi ilave edilmiştir (Şekil 5.10).

Böylece hastaneler, ilaç fabrikaları, biyokimya laboratuvarları veya buna benzer sağlık sektörlerinde enfeksiyon riskini azaltmak amacı ile hava kalitesinin saptanması ve takibinde kolaylık sağlanması amaçlanmıştır.

## KAYNAKLAR

- [1] Gaynes, R.P., Horan, T.P., Surveillance of nosocomial infections, Mayhall, C.G., Ed., *Hospital epidemiology and infection control*. 2 th. ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; p.1285-1317, **1999**.
- [2] Kowalski, J., Bahnfleth, W., *Airborne respiratory diseases and mechanical systems for control of microbes*, HPAC, 34-48, July **1998**.
- [3] Gürler, N., *Hastane enfeksiyonlarına yol açan sorumlu mikroorganizmalar nelerdir?*, 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 690-701, **2005**.
- [4] Beggs, C.B., The airborne transmission of infection in hospital buildings: Fact or fiction?, *Indoor and Built Environment*, 12, 9-18, **2003**.
- [5] <http://www.mikrobiyoloji.org> (Aralık, **2014**).
- [6] Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C., *Microbiology: an introduction*. Pearson Education, 9th edn., Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, USA, **2007**.
- [7] Anonim, Bacterial Growth, <http://classroom.sdmesa.edu/eschmid/Lecture4-Microbio.htm> (Aralık,2014)
- [8] Arda, M., *Temel Mikrobiyoloji* ; 2. Baskı. Medisan Yayıncılık, **2000**.
- [9] Shuler, M.L., Kargi, F., *Bioprocess engineering*, Prentice Hall New York, **2002**.
- [10] Dharan, S., Pittet, D., Environmental controls in operating theatres, *Journal of Hospital Infection*, 51, 79-84, **2002**.
- [11] Wenzel,R., Bearman,G., Brewer,T., Butzler,J.P., *A Guide to Infection Control in the Hospital*, 4th edn.,Boston, MA, USA, **2008**.
- [12] Ponce-de-Leon-Rosales, S., Macias, A.E., *Global perspectives of infection control*, In:Wenzel, R.P., editörs. Prevention and Control of Nosocomial Infections. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 14-32, **2003**.
- [13] Pasquarella, C., Pitzurra, O., Savin, A., The index of microbial air contamination, Review, *Journal of Hospital Infection*, 46: 241–256, **2000**.
- [14] Whyte W. Sterility assurance and models for assessing bacterial contamination. *Journal of Parenteral Science and Technology*, 40: 188–197, **1995**.
- [15] Verreault, D., Moineau, S., Duchaine, C., Methods for Sampling of Airborne Viruses, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(3), 413-444, **2008**.
- [16] Humphreys, H., Microbes in the air – when to count ! (the role of air sampling in hospitals), *Journal of Medical Microbiology*, 37: 81–82, **1992**.
- [17] Humphreys, H., Stacey, A.R., Taylor, E.W., Survey of operating theatres in Great Britain and Ireland, *Journal of Hospital Infection*, 30: 245–252, **1995**.
- [18] Humphreys, H., Infection control team in the operating room : separating aspiration from reality!, *Journal of Hospital Infection*, 42: 265–267, **1999**.

- [19] Charnley J., Eftekhari M. Postoperative infection in total prosthetic arthroplasty of the hip-joint with special reference to the bacterial content of air in the operating room, *British Journal of Surgery*, 56: 641–664, **1969**.
- [20] Whyte, W., In support of settle plates, *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 50: 201–204, **1996**.
- [21] Friberg, B., Friberg, S., Burman, L.G., Inconsistent correlation between aerobic bacterial surface and air counts in operating rooms with ultra clean laminar air flows: proposal of a new bacteriological standard surface contamination, *Journal of Hospital Infection*, 42: 287–293, **1999**.
- [22] Sandle, T., Selection of active air-samplers, *The Journal Institute of Science and Technology*, 25-31, **2010**.
- [23] Wirtanen, G., Salo, S., *Hygiene Control in Nordic Dairies*, VTT Biotechnology Publications 545, Finland, **2004**.
- [24] Yao, M., Mainelis, G., Analysis of portable impactor performance for enumeration of viable bioaerosols, *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 4 (7) :514-524, **2007**.
- [25] Salustiano, V.C., Andrade, N.J., Brandao, S.C.C., Azeredo, R.M.C., Lima, S.A.K., Microbiological air quality of processing areas in a dairy plant as evaluated by the sedimentation technique and a one-stage air sampler, *Brazilian Journal of Microbiology*, 34 : 255-259, **2003**.
- [26] Stetzenbach, L.D., Buttner, M.P., Cruz, P., Detection and enumeration of airborne biocontaminants, *Current Opinion in Biotechnology*, 15, 170-174, **2004**.
- [27] Han, T., Mainelis, G., Investigation of inherent and latent internal losses in liquid-based bioaerosol samplers, *Journal of Aerosol Science*, 45:58–68, **2012**.
- [28] Dart, A., Thornburg J., Collection efficiencies of bioaerosol impingers for virus-containing aerosols, *Atmospheric Environment*, 42 (4), 828–832, **2008**.
- [29] Wei, Z., Rosario, R.C., Montoya, L.D., Collection efficiency of a midget impinger for nanoparticles in the range of 3–100 nm, *Atmospheric Environment*, 44 (6): 872–876, **2010**.
- [30] Deacon, L.J., Pankhurst, L.J., Drew, G.H., Longhurst, P.J., Pollard, S.J.T., Tyrrel, S.F., Hayes, E.T., Longhurst, J.W.S., Jackson, S., Liu, J., Particle size distribution of airborne *Aspergillus fumigatus* spores emitted from compost using membrane filtration, *Atmospheric Environment*, 43(35):5698-5701, **2009**.
- [31] Ljungquist, B., Reinmüller, B., Interaction between air movements and the dispersion of contaminants: clean zones with unidirectional air flow, *Journal of Parenteral Science and Technology*, 47(2), 60-69, **1993**.
- [32] Wight, G.D., *Fundamentals of Air Sampling*, CRC Press, Florida, USA, **1994**.
- [33] [http://www.foodquality.com/details/article/878155/Air\\_Sampling\\_101.html](http://www.foodquality.com/details/article/878155/Air_Sampling_101.html) (Ocak 2015)
- [34] Tavora, L.G.F., Gambale, W., Heins-Vaccari, E.M., Arriagada, G.L.H., Lacaz, C.S.,

- Santos, C.R., Levin, A.S., Comparative performance of two air samplers for monitoring airborne fungal propagules, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36: 613-616, **2003**.
- [35] Fung, D.Y.C., Rapid Methods and Automation in Microbiology, *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 1:3-22, **2002**.
- [36] <http://aerosol.ees.ufl.edu/Thermophoresis/section03.html> (Ocak,2015).
- [37] Basic Guide to Particle Counters and Particle Counting. *Basic Guide to Particle Counters and Particle Counting*, Particle Measuring Systems,**2011**.
- [38] Dekoninck, L; Botteldooren, D; Int Panis, L; Hankey, S; Jain, G; Karthik, S; Marshall, J., "Applicability of a noise-based model to estimate in-traffic exposure to black carbon and particle number concentrations in different cultures". *Environment International*: 89–98, **2015**
- [39] Moon, H.S., Nam, Y.W., Park, J.C., Jung, H.I., Dielectrophoretic Separation of Airborne Microbes and Dust Particles Using a Microfluidic Channel for Real-Time Bioaerosol Monitoring. *Environmental Science & Technology*, 43 (15):5857-5863, **2009**.
- [40] Fierer, N., Liu, Z., Hernandez, M.R., Knight, R., Henn, M., Hernandez, M.T, Short-term temporal variability in airborne bacterial and fungal populations, *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (1): 200-207, **2008**.
- [41] Saxenaa, K., Jaina, S., Sharmab, D.K., Duac, R., Kamthaniaa, M., Applications of integrated microfluidic devices in environmental monitoring: a review, *The Journal of Energy and Environmental Science*, 128, 521-530, **2014**.
- [42] Rosch, P., Harz, M., Peschke, K.D., Roneberger, O., Burkhardt, H., Schule, A., Schmauz, G., Lankers, M., Hofer, S., Thiele, H., Motzkus, H.W., Popp, J., On-line monitoring and identification of Bioaerosols, *Analytical Chemistry*, 78 (7), 2163-2170, **2006**.
- [43] Terzeva, S., Donnelly, J., Ulevicius, V., Grinshpun, S.A., Willeke, K., Stelma, G.N.,Brenner, K.P., Comparison of methods for detection and enumeration of airborne microorganisms collected by liquid impingement, *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (7) : 2264-2272, **1996**.
- [44] Aytaç, S.A., Mercanoğlu, B., Özbaş, Z.Y., Tampon çözeltide immunomanyetik ayırma ve ATP biyoluminesans yöntemleri ile Escherichia Coli 0157:h7 sayımı, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 58 (2), 49-52, **2001**.
- [45] Cutter, C.N., Dorsa, W.J., Siragusa, G.R., A rapid microbial ATP bioluminescence assay for meat carcasses, *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, 16: 726-736, **1996**.
- [46] Heidelberg, J.F., Shahamat, M., Levin, M., Rahman, I., Stelma, G., Grim, C., Colwell, R.R., Effect of aerosolization on culturability and viability of gram-negative bacteria, *Application Environmental Microbiology*, 63 (9) : 3585-3588, **1997**.
- [47] Galipcan B., *Elipsometri Temelli Oligonükleotid ve Oligopeptid Problemleri Taşıyan Tekli ve Çoklu Sensör Yüzeylerinin Hazırlanması*, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri



Enstitüsü, Doktora Tezi, **2008**.

- [48] Iqbal S.S., Mayo M.W., Bruno J.G., Bronk B.V., Batt C.A., Chambers J.P.A., Biosensor technologies for molecular recognition of biological threat agents, *Biosensors & Bioelectronics*, 15:549-578, **2000**.
- [49] Güvener N., *Fotolitografi ve Mikrospotlama ile Array Platformlarının Hazırlanması ve Uygulanması*, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, **2011**.
- [50] Arruebo M., Valladares M., Fernandez A.G., Antibody- conjugated nanoparticles for biomedical applications, *Journal of Nanomaterials*, p. 1-24, **2009**.
- [51] Willner I., Katz E., Integrated nanoparticle-biomolecule hybrid systems: Synthesis, properties, and applications, *Angewandte Chemie International Edition*, 43:6042-6108, **2004**.
- [52] Boozer C., Kim G., Cong S., Guan H., Londergan T., Looking towards label-free biomolecular interaction analysis in a high-throughput format: a review of new surface plasmon resonance technologies, *Current opinion in biotechnology*, 17 (4):400-405, **1997**.
- [53] Kneipp K., Surface-enhanced Raman scattering, *Physics Today*, 60:40–46, **2007**.
- [54] Kneipp, J., Wittig, B., Bohr, H., Kneipp K., Surface-enhanced Raman scattering: a new optical probe in molecular biophysics and biomedicine, *Theoretical Chemistry Accounts*, 125:319-327, **2010**.
- [55] Jordan, C.E., Frey, B.L., Kornguth, S., Corn, R.M. Characterization of poly-L-lysine adsorption onto alkanethiol-modified gold surfaces with polarization-modulation Fourier transform infrared spectroscopy and surface plasmon resonance measurements, *Langmuir*, 10 (10):3642-3648, **1994**.
- [56] Melendez, J., Carr, R., Bartholomew, D., Taneja, H., Yee, S.S., Jung, C., Furlong, C., Development of a surface plasmon resonance sensor for commercial applications, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 39: 375-379, **1997**
- [57] Azzam, R.M.A., Bashara, N.M. *Ellipsometry and Polarized Light*, North-Holland, Amsterdam, **1987**.
- [58] Otman, B. *Elipsometre Esaslı Mikroakışkan Sistemleri Kullanan Protein Array Platformlarının Hazırlanması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2010**.
- [59] Ferraro, J.R. ve Nakamoto, K., *Introductory Raman Spectroscopy*, Academic Press, New York, **1994**.
- [60] Moskovits M., Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective. *Journal of Raman Spectroscopy*, 36, 485–496, **2005**.
- [61] Siesler, H.W., Ozoki, Y., Kawata S., Heise, H.M., *Near-Infrared Spectroscopy Principles, Instruments, Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**.
- [62] Köksal, Y., *Kapalı Mahallerde Hava Kalitesinin İyileştirilmesi*, V. Ulusal Tesisat Mühendisliği Kongresi ve Sergisi, 625-645, **2001**.

- [63] Süngü, A., *Ameliyathane havalandırma sistemleri IVF ve genetik laboratuvar havalandırma sistemleri*, 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 466-485, **2007**.
- [64] Federal Standard 209E, *Airborne Particulate Cleanliness Classes in Cleanrooms and Clean Zones*, **1992**. <http://www.set3.com/papers/209e.pdf>
- [65] TS 11605 EN ISO 14644-1, *Temiz odalar ve bu odalarda birlikte kontrol edilen ortamlar Bölüm 1- Hava temizliğinin sınıflandırılması*, Mayıs **2001**.
- [66] TS EN ISO 14644-2, *Temiz odalar ve bunlarla ilgili kontrollü ortamlar Bölüm 2 – ISO 14644-1'e sürekli uygunluğun sınanması için deney ve izleme şartları*, Nisan **2006**.
- [67] TS EN ISO 14644-3, *Temiz odalar ve bunlarla ilgili kontrollü ortamlar Bölüm 3 – Deney Metotları*, Temmuz **2006**.
- [68] TS EN ISO 14644-8, *Temiz odalar ve bağlı kontrollü ortamlar- Bölüm 8: Hava kaynaklı moleküler kirlenmenin sınıflandırılması*, Haziran **2013**.
- [69] TS EN ISO 14644-9, *Temiz odalar ve bunlarla ilgili kontrollü ortamlar- Bölüm 9: Partikül derişimi ile yüzey temizliğinin sınıflandırılması*, Haziran **2013**.
- [70] TS EN ISO 14698-1, *Temiz odalar ve birlikte kontrol edilen ortamlar - Biyokontaminasyon kontrolü - Bölüm 1: Genel prensipler ve yöntemler*, Ocak **2004**.
- [71] TS EN ISO 14698 -2, *Temiz odalar ve birlikte kontrol edilen ortamlar - Biyolojik kirlenme kontrolü - Bölüm 2: Biyolojik kirlenme verisinin değerlendirilmesi ve yorumlanması*, Ekim **2006**.
- [72] Yedamale, P., *Brushless DC (BLDC) Motor Fundamentals*, Microchip Technology Inc. App. Note, USA. **2003**.
- [73] Wang, H., Design and Implementation of Brushless DC Motor Drive and Control System, *Procedia Engineering* 29 : 2219-2224, **2012**.
- [74] ULU, B., *Fırçasız Doğru Akım Motor (BLDC) Hız Kontrolü*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, **2011**.
- [75] Cengel, Y.A., Michael, A., *Termodinamik Mühendislik Yaklaşımıyla*, Literatür Yayıncılık, **1996**.
- [76] Buist, R.J., Lau, P.G., *Calculation of Thermoelectric Power Generation Performance Using Finite Element Analysis*, Proceedings of the XVI International Conference on Thermoelectrics, August 26-29, Dresden, Germany, **1997**.
- [77] Fidan, U., *Mikrodenetleyici kontrollü taşınabilir termoelektrik tıp kiti cihazı tasarımı ve uygulanması*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2000**.
- [78] <http://ww1.microchip.com/downloads/en/DeviceDoc/30292D.pdf> (Ocak 2015)
- [79] Turgutlu, H. F. *PIC Mikrodenetleyici Kullanarak Deneysel Bir Endüstriyel Sistemin Kontrol Edilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı, Niğde, **2002**.
- [80] <http://www.robots101.com/fircasiz-brushless-dc-motorlar-hiz-kontrol-devreleri-escler/>

(Ocak 2015)

- [81] <http://www.toysonics.com/helicopters-airplanes-esc/> (Ocak 2015)
- [82] <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/gelisim/elektronik/dosyalar/5/LM35.pdf> (Ocak 2015)
- [83] Altınbaşak, O., *PIC Basic Pro ile PIC Programlama*, Altaş Yayınları, 296 s, **2012**.
- [84] Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Infection Disease Clinics of North America*, 11:479-96, **1997**.
- [85] *Yataklı Sağlık Tesislerinde Yoğun Bakım Hizmetlerinin Uygulama Usul Ve Esasları Hakkında Tebliğinde*, Resmi Gazete:20.7.2011-28000
- [86] Atiyeh, B.S, Gunn, S.W., Hayek, S.N., State of the art in burn treatment. *World Journal of Surgery*, 29: 131-148, **2005**.
- [87] Macedo, J.L.S., Santos, J.B., Bacterial and fungal colonization of burn wounds. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 100 (5): 535-539, **2005**.
- [88] Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M., *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*., Nobel Tıp Kitabevleri, 2136-2147, **2008**.
- [89] Chosky, S.A., Modha, D., Taylor, G.J., Optimisation of ultraclean air. The role of instrument preparation. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 78: 835–837, **1996**.
- [90] Fisher, G., Fodré, S., Nehéz, M., Versuche zur Feststellung von Gesamtkeimzahl-Grenzwerten in der Raumluft von Gesundheitseinrichtungen, *Zeitschrift für die Gesamte Hygiene und Ihre Grenzgebiete*,17: 576–579, **1971**.
- [91] Fisher, G., Fodré, S., Nehéz, M., Neuere Beiträge zur Standardisierung mit mikrobiologischen Sedimentations Luftuntersuchungen. *Zeitschrift für die Gesamte Hygiene und Ihre Grenzgebiete*, 18:267–272, **1972**.
- [92] Fisher, G., Fodré, S., Nehéz, M., Das Ergebnis der Untersuchungen zur Feststellungs von Gesamtkeimzahl-Grenzwerten in der Luft von Operationsräumen. *Zeitschrift für die Gesamte Hygiene und Ihre Grenzgebiete*, 18: 729–733, **1972**.
- [93] Perdelli, F., Sartini, M., Orlando, M., Secchi, V., Cristina, M.L.,: Relationship between settling microbial load and suspended microbial load in operating rooms. *Annali di igiene*, 12:373–380, **2000**.
- [94] Sayer, W.J., MacKnight, N.M., Wilson, H.W., Hospital airborne bacteria as estimated by the Andersen sampler versus the gravity settling culture plate. *American Journal of Clinical Pathology*, 58:558–566, **1972**.
- [95] Napoli,C., Marcotrigiano V., Montagna, M.T., Air sampling procedures to evaluate microbial contamination: a comparison between active and passive methods in operating theatres, *Biomed Central Public Health*, 12:594, **2012**.
- [96] Nesa, D., Lortholary, J., Bouakline, A., Bordes, M., Chandenier, J., Derouin, F., Gangneux, J.P., Comparative performance of impactor air samplers for quantification of fungal contamination, *Journal of Hospital Infection* , 47: 149–155, **2001**.

- [97] Skjak-Braek, G., Alginates: Biosynthesis and some structure-function relationships relevant to biomedical and biotechnological applications, *Biochemical Society Transactions*, 20(1):27-33, **1992**
- [98] Grgn, V., Halkman, K., *Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri*: 2 baskı, Gıda Teknolojisi Yayın no: 7, Ankara, **1990**

## ÖZGEÇMİŞ

### Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Duygu ERYILMAZ

Doğum Yeri : Kandıra (İZMİT)

Medeni Hali : Evli

E-posta : [eryilmaz.duygu@hotmail.com](mailto:eryilmaz.duygu@hotmail.com)

Adresi : Arif Yıldız Cad. Demirlibahçe Mah. No: 33/2 ANKARA

### Eğitim

Lise : Malatya Lisesi

Lisans : Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektronik Mühendisliği

Bölümü

Yüksek Lisans : Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elektronik Anabilim

Dalı

Doktora : Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik

Anabilim Dalı

### Yabancı Dil ve Düzeyi

İyi

### İş Deneyimi

2013 - ..... Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu / Tıbbi Cihaz  
Sektörel Hizmetler Dairesi Başkanlığı, Klinik Mühendislik Birimi

2002 - 2013 Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Hastane Mühendisliği –Başmühendis

2000-2002 Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektrik Elektronik  
Mühendislik Bölümü / Araştırma Görevlisi

1998-2000 İlgenler Ltd. Şti. / Plan-Proje Bölümü

1997-1998 Aferin A.Ş / Ar-Ge Sorumlusu

**Deneyim Alanları**

Etkin Tıbbi Cihaz Yönetimi, Tıbbi Cihaz Regülasyonları, Tıbbi Cihaz Test, Kontrol ve Kalibrasyonu, Güç Elektroniği, Kuvvetli ve Zayıf Akım Sistemleri.

**Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi****Tezden Üretilmiş Yayınlar****Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar**

## **EKLER**

- Ek 1. PIC 16F876 mikrodenetleyicisi katalog bilgisi
- Ek 2. LM35 analog sıcaklık algılayıcı tmleŖik devresi
- Ek.3. Sistemin PICBASIC ile yazılan yazılımı

## Ek 1. PIC 16F876 mikrodenetleyicisi katalog bilgisi



# PIC16F87X

## 28/40-Pin 8-Bit CMOS FLASH Microcontrollers

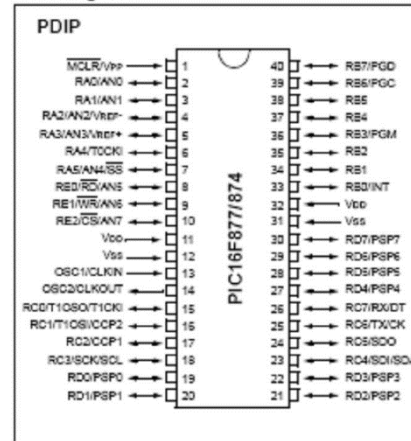
### Devices Included in this Data Sheet:

- PIC16F873
- PIC16F874
- PIC16F876
- PIC16F877

### Microcontroller Core Features:

- High performance RISC CPU
- Only 35 single word instructions to learn
- All single cycle instructions except for program branches which are two cycle
- Operating speed: DC - 20 MHz clock input  
DC - 200 ns instruction cycle
- Up to 8K x 14 words of FLASH Program Memory.  
Up to 368 x 8 bytes of Data Memory (RAM)  
Up to 256 x 8 bytes of EEPROM Data Memory
- Pinout compatible to the PIC16C73B/74B/76/77
- Interrupt capability (up to 14 sources)
- Eight level deep hardware stack
- Direct, indirect and relative addressing modes
- Power-on Reset (POR)
- Power-up Timer (PWRT) and Oscillator Start-up Timer (OST)
- Watchdog Timer (WDT) with its own on-chip RC oscillator for reliable operation
- Programmable code protection
- Power saving SLEEP mode
- Selectable oscillator options
- Low power, high speed CMOS FLASH/EEPROM technology
- Fully static design
- In-Circuit Serial Programming™ (ICSP) via two pins
- Single 5V In-Circuit Serial Programming capability
- In-Circuit Debugging via two pins
- Processor read/write access to program memory
- Wide operating voltage range: 2.0V to 5.5V
- High Sink/Source Current: 25 mA
- Commercial, Industrial and Extended temperature ranges
- Low-power consumption:
  - < 0.6 mA typical @ 3V, 4 MHz
  - 20 µA typical @ 3V, 32 kHz
  - < 1 µA typical standby current

### Pin Diagram

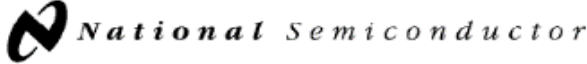


### Peripheral Features:

- Timer0: 8-bit timer/counter with 8-bit prescaler
- Timer1: 16-bit timer/counter with prescaler, can be incremented during SLEEP via external crystal/clock
- Timer2: 8-bit timer/counter with 8-bit period register, prescaler and postscale
- Two Capture, Compare, PWM modules
  - Capture is 16-bit, max. resolution is 12.5 ns
  - Compare is 16-bit, max. resolution is 200 ns
  - PWM max. resolution is 10-bit
- 10-bit multi-channel Analog-to-Digital converter
- Synchronous Serial Port (SSP) with SPI™ (Master mode) and I<sup>2</sup>C™ (Master/Slave)
- Universal Synchronous Asynchronous Receiver Transmitter (USART/SCI) with 9-bit address detection
- Parallel Slave Port (PSP) 8-bits wide, with external RD, WR and CS controls (40/44-pin only)
- Brown-out detection circuitry for Brown-out Reset (BOR)



## Ek 2. LM35 analog sıcaklık algılayıcı tümleşik devresi



December 1994

# LM35/LM35A/LM35C/LM35CA/LM35D Precision Centigrade Temperature Sensors

## General Description

The LM35 series are precision integrated-circuit temperature sensors, whose output voltage is linearly proportional to the Celsius (Centigrade) temperature. The LM35 thus has an advantage over linear temperature sensors calibrated in ° Kelvin, as the user is not required to subtract a large constant voltage from its output to obtain convenient Centigrade scaling. The LM35 does not require any external calibration or trimming to provide typical accuracies of  $\pm 1/4^\circ\text{C}$  at room temperature and  $\pm 3/4^\circ\text{C}$  over a full  $-55$  to  $+150^\circ\text{C}$  temperature range. Low cost is assured by trimming and calibration at the wafer level. The LM35's low output impedance, linear output, and precise inherent calibration make interfacing to readout or control circuitry especially easy. It can be used with single power supplies, or with plus and minus supplies. As it draws only  $60\ \mu\text{A}$  from its supply, it has very low self-heating, less than  $0.1^\circ\text{C}$  in still air. The LM35 is rated to operate over a  $-55$  to  $+150^\circ\text{C}$  temperature range, while the LM35C is rated for a  $-40$  to  $+110^\circ\text{C}$  range ( $-10^\circ$  with improved accuracy). The LM35 series is

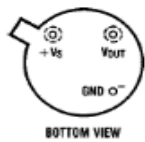
available packaged in hermetic TO-46 transistor packages, while the LM35C, LM35CA, and LM35D are also available in the plastic TO-92 transistor package. The LM35D is also available in an 8-lead surface mount small outline package and a plastic TO-202 package.

## Features

- Calibrated directly in ° Celsius (Centigrade)
- Linear + 10.0 mV/°C scale factor
- $0.5^\circ\text{C}$  accuracy guaranteeable (at  $+25^\circ\text{C}$ )
- Rated for full  $-55$  to  $+150^\circ\text{C}$  range
- Suitable for remote applications
- Low cost due to wafer-level trimming
- Operates from 4 to 30 volts
- Less than  $60\ \mu\text{A}$  current drain
- Low self-heating,  $0.08^\circ\text{C}$  in still air
- Nonlinearity only  $\pm 1/4^\circ\text{C}$  typical
- Low impedance output,  $0.1\ \Omega$  for 1 mA load

## Connection Diagrams

TO-46  
Metal Can Package\*

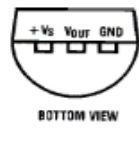


TL/H/5516-1

\*Case is connected to negative pin (GND)

Order Number LM35H, LM35AH,  
LM35CH, LM35CAH or LM35DH  
See NS Package Number H03H

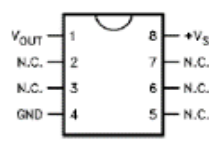
TO-92  
Plastic Package



TL/H/5516-2

Order Number LM35CZ,  
LM35CAZ or LM35DZ  
See NS Package Number Z03A

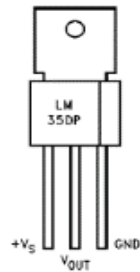
SO-8  
Small Outline Molded Package



TL/H/5516-21

Top View  
N.C. = No Connection  
Order Number LM35DM  
See NS Package Number M08A

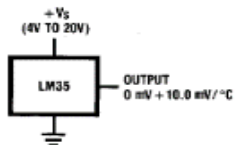
TO-202  
Plastic Package



TL/H/5516-24

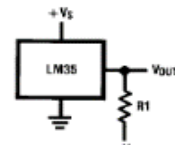
Order Number LM35DP  
See NS Package Number P03A

## Typical Applications



TL/H/5516-3

FIGURE 1. Basic Centigrade  
Temperature  
Sensor ( $+2^\circ\text{C}$  to  $+150^\circ\text{C}$ )



TL/H/5516-4

Choose  $R_1 = -V_S/50\ \mu\text{A}$   
 $V_{OUT} = +1,500\ \text{mV}$  at  $+150^\circ\text{C}$   
 $= +250\ \text{mV}$  at  $+25^\circ\text{C}$   
 $= -550\ \text{mV}$  at  $-55^\circ\text{C}$   
FIGURE 2. Full-Range Centigrade  
Temperature Sensor

TRISTATE is a registered trademark of National Semiconductor Corporation.

### Ek.3. Sistemin PICBASIC ile yazılan yazılımı

```
'-----  
***** 18F252 BAKTERI PID *****  
'-----  
  
#CONFIG  
  
__CONFIG __CONFIG1H, _OSCS_OFF_1H & _HS_OSC_1H  
  
__CONFIG __CONFIG2L, _PWRT_ON_2L & _BOR_ON_2L & _BORV_42_2L  
  
__CONFIG __CONFIG2H, _WDT_OFF_2H & _WDTPS_128_2H  
  
__CONFIG __CONFIG3H, _CCP2MX_ON_3H  
  
__CONFIG __CONFIG4L, _STVR_ON_4L & _LVP_OFF_4L & _DEBUG_OFF_4L  
  
__CONFIG __CONFIG5L, _CP0_OFF_5L & _CP1_OFF_5L & _CP2_OFF_5L &  
_CP3_OFF_5L  
  
__CONFIG __CONFIG5H, _CPB_OFF_5H & _CPD_OFF_5H  
  
__CONFIG __CONFIG6L, _WRT0_OFF_6L & _WRT1_OFF_6L & _WRT2_OFF_6L &  
_WRT3_OFF_6L  
  
__CONFIG __CONFIG6H, _WRTC_OFF_6H & _WRTB_OFF_6H & _WRTD_OFF_6H  
  
__CONFIG __CONFIG7L, _EBTR0_OFF_7L & _EBTR1_OFF_7L & _EBTR2_OFF_7L  
& _EBTR3_OFF_7L  
  
__CONFIG __CONFIG7H, _EBTRB_OFF_7H  
  
#ENDCONFIG  
  
'-----  
  
TRISA=%00000001  
  
TRISB=%00000000
```

```
TRISC=%00000000
```

```
PORTA=0 : PORTB=0 : PORTC=0
```

```
'-----
```

```
DEFINE OSC 4
```

```
DEFINE LCD_DREG          PORTB      'LCD data bacakları hangi porta bağlı?
```

```
DEFINE LCD_DBIT          4           'LCD data bacakları hangi bitten başlıyor?
```

```
DEFINE LCD_EREG          PORTB      'LCD Enable Bacağı Hangi Porta bağlı?
```

```
DEFINE LCD_EBIT          3           'LCD Enable Bacağı Hangi bite bağlı ?
```

```
DEFINE LCD_RWREG  PORTB  'LCD read/write Bacağı Hangi Porta bağlı?
```

```
DEFINE LCD_RWBIT  2     'LCD read/write Bacağı Hangi bite bağlı ?
```

```
DEFINE LCD_RSREG  PORTB  'LCD RS Bacağı Hangi Porta bağlı ?
```

```
DEFINE LCD_RSBIT  1     'LCD RS bacağı Hangi Bite bağlı ?
```

```
DEFINE LCD_BITS    4     'LCD 4 bit mi yoksa 8 bit olarak bağlı?
```

```
DEFINE LCD_LINES   2     'LCD Kaç sıra yazabiliyor
```

```
LCDOUT $FE,$70,6,9,9,6,0,0,0,0      'Derece 6
```

```
DEFINE    ADC_BITS    10     'A/D çevirim sonucu kaç bit olacak
```

```
DEFINE    ADC_CLOCK    3     'Clock kaynağı (3=rc)
```

```
DEFINE    ADC_SAMPLEUS 100    'Örnekleme zamanı mikro saniye cinsinden.
```

```
DEFINE CCPI_REG PORTC 'Hpwm 1 pin port
```

```
DEFINE CCP1_BIT 2   'Hpwm 1 pin bit

DEFINE CCP2_REG PORTC 'Hpwm 2 pin port

DEFINE CCP2_BIT 1   'Hpwm 2 pin bit

'-----

ADCON1=%10001110 'AN0 AN1 AN3

'-----

I    VAR WORD

J    VAR WORD

K    VAR WORD

N    VAR WORD

TOTAL  VAR WORD

ADC    VAR WORD

T      VAR WORD

TREF  VAR WORD

TAYAR  VAR WORD ;AYARLANAN SICAKLIK DEĞERİ 3 DIGIT

ORAN   VAR WORD

DUTY   VAR BYTE

DUTYLCD  VAR BYTE ;LCD DE GÖSTERİLECEK DUTY DEĞERİ

LITRE  VAR WORD

SURE   VAR WORD

ZAMAN  VAR WORD
```

MHIZ VAR BYTE

DURUM1 VAR BYTE ;İSTENİLEN HACİMDEKİ HAVA KAPSÜLDEN GEÇTİKTEN  
SONRA MOTORUN DURMA HALİNDE KALMASINI BİLDİRİR

SEVIYE1 VAR BYTE ;EN KÜÇÜK DUTY DEĞERİ, FAN ÇALIŞIRKEN 20,  
ÇALIŞMIYORKEN 10

BUZZER VAR PORTC.3

BMENU VAR PORTC.5

BARTI VAR PORTC.4

BEKSI VAR PORTC.7

BGERI VAR PORTC.6

'-----  
LCDOut \$FE,1 LCD de CLS yapar

PAUSE 200  
'-----

TOTAL=0 : I=0 : J=0 : K=0 : N=0

T=0 : TREF=0 : ORAN=0 : TAYAR=370 : DUTY=0 : DUTYLCD=0 : LITRE=0 : SURE=0 :  
MHIZ=100 : ZAMAN=0 : DURUM1=0 : SEVIYE1=0

HPWM 2,DUTY,500

HPWM 1,MHIZ,500  
'-----

\*\*\*\*\*  
,  
\*\*\*\*\*

BASLA0:

HIGH BUZZER

lcdout \$FE,\$80,"MIKROBIYAL HAVA "

LCDOUT \$FE,\$C0,"ORNEKLEYICI "

PAUSE 5000

LOW BUZZER

\*\*\*\*\*  
,  
\*\*\*\*\*

BASLA1: ;BAŞLANGIÇ FAN ÇALIŞMA SÜRESİ SEÇİM MENÜSÜ

lcdout \$FE,\$80,"LITRE = ",DEC4 LITRE," LT "

LCDOUT \$FE,\$C0,"SURE = ",DEC4 SURE," SN "

PAUSE 200

-----  
IF BARTI=1 AND LITRE<>1000 THEN

WHILE BARTI=1

PAUSE 100

WEND

LITRE=LITRE+50

SURE=SURE+30

ENDIF  
-----

IF BEKSI=1 AND LITRE<>0 THEN

WHILE BEKSI=1

PAUSE 100

WEND

LITRE=LITRE-50

SURE=SURE-30

ENDIF

IF BMENU=1 THEN

WHILE BMENU=1

PAUSE 100

WEND

MHIZ=122 ;MOTOR HIZININ YÜKLENDİĞİ İLK VE TEK YER

HPWM 1,MHIZ,500

SEVIYE1=60 ;FAN ÇALIŞIRKENKİ EN DÜŞÜK DUTY DEĞERİ

GOTO DONGU0

ENDIF

GOTO BASLA1

.\*\*\*\*\*  
,  
\*\*\*\*\*

DONGU0:

CALL TREF\_OLCUM ' İLK ÖLÇÜLEN SICAKLIK REFERANS DEĞERİ

-----  
IF TREF=TAYAR THEN TREF=TAYAR-1 ;TRANSFER FONKSİYONUNUN TAYAR-TREF BÖLÜMÜNDE HATA OLMAMASI İÇİN BU EŞİTLİK OLUŞMASI DURUMUNDA BOZULMALIDIR  
-----

IF TREF>=TAYAR THEN ;TRANSFER FONKSİYONUNUN TAYAR-TREF BÖLÜMÜNDE HATA OLMAMASI İÇİN BU DURUMUN OLUŞMAMASI SAĞLANMIŞTIR

lcdout \$FE,\$80,"TREF > TAYAR "

LCDOUT \$FE,\$C0,"TREF = ",DEC3 TREF," BEKLE"

PAUSE 2000

GOTO DONGU0

ENDIF  
-----

DUTY=TAYAR-TREF ;DUTY DEĞERİ SİSTEMİN O ANKI BULUNDUĞU SICAKLIK ARALIĞINA UYGUN SEÇİLMELİDİR

IF DUTY<SEVIYE1 THEN DUTY=SEVIYE1 ' DUTY 10 DAN KÜÇÜK OLMAMALI

DUTYLCD=DUTY ;DUTY DEĞERİ HER DEĞİŞTİĞİNDE LCD DE GÖSTERİLECEK DUTY DEĞERİ DE DEĞİŞMELİDİR.

HPWM 2,DUTY,500 ;AÇILIŞTA SICAKLIĞIN BELİRLENEN DUTY DEĞERİNE GÖRE UYGULANDIĞI İLK NOKTA

PAUSE 1000 ;T DEĞERİYLE TREF ARASININ BİR MİKTAR AÇILMASI İÇİN VERİLEN GECİKME  
-----

ZAMAN=SURE+1



```

*****
,
*****
DONGU1:
'-----
CALL T_OLCUM ' ANLIK ÖLÇÜLEN SICAKLIK DEĞERİ
'-----
IF TREF>T THEN TREF=T ;TREF DEĞERİ T DEN BÜYÜK OLUNCA DUTY
DEĞERİNDE SAÇMALAMA OLUYOR
'---ZAMAN-----
IF ZAMAN<>0 THEN
    ZAMAN=ZAMAN-1
ENDIF
IF ZAMAN=10 AND T>355 THEN ;FANIN DURMASINA 5 SN KALA ISITICIYI
KAPATIYORUM Kİ YÜKSEK MİN DUTY DEĞERİNDEN DOLAYI AŞIRI ISINAN
ISITICI 37 DERECEYİ GEÇMESİN
    HPWM 2,0,500
    lcdout $FE,$80," BEKLEYİN "
    LCDOUT $FE,$C0," "
    PAUSE 10000
ENDIF
IF ZAMAN=0 AND SURE<>0 AND DURUM1=0 THEN
    DURUM1=1
    SEVIYE1=10 ;FAN DURDUĞUNA GÖRE MİN DUTY DEĞERİNİ DÜŞÜREBİLİRİZ

```

```

DUTY=10

DUTYLCD=10

MHIZ=100

HPWM 1,MHIZ,500

ENDIF

'---BUTON-----
IF BGERI=1 THEN
    WHILE BGERI=1
        lcdout $FE,$80,"    OK    "
        LCDOUT $FE,$C0,"        "
        PAUSE 100
    WEND
    DURUM1=0
    DUTY=0
    DUTYLCD=0
    HPWM 2,DUTY,500
    MHIZ=100
    HPWM 1,MHIZ,500
    GOTO BASLA1
ENDIF

'---BUTON---MOTORU DURDURMAK İÇİN MENU TUSUNA BAS-----
IF BMENU=1 THEN
    WHILE BMENU=1
        lcdout $FE,$80,"    OK    "

```

```
LCDOUT $FE,$C0,"          "

PAUSE 100

WEND

HPWM 2,0,500

IF T>355 THEN

    lcdout $FE,$80,"  BEKLEYIN  "

    LCDOUT $FE,$C0,"          "

    PAUSE 10000

ENDIF

DUTY=TAYAR-TREF

DUTYLCD=DUTY

SEVIYE1=10

MHIZ=100

HPWM 1,MHIZ,500

ENDIF

'---LCD-----

lcdout $FE,$80,"T=",DEC3 T,"C / t=",DEC3 ZAMAN,"SN"

LCDOUT $FE,$C0,"HACIM=",DEC4 LITRE,"LT ",DEC3 DUTYLCD

PAUSE 10

'-----

IF T>=TAYAR THEN

    DUTYLCD=0
```

```

HPWM 2,0,500

PAUSE 1000

GOTO DONGU1

ENDIF

'---PI TRANSFER FONKSİYONUNUN DUTY DEĞERİNE UYGULANMASI-----'

ORAN=(TAYAR-T)*100

ORAN=ORAN/(TAYAR-TREF)

DUTY=(DUTY*ORAN)/100

IF DUTY>200 THEN DUTY=200

IF DUTY<SEVIYE1 THEN DUTY=SEVIYE1

DUTYLCD=DUTY

'-----'

TREF=T

IF TREF=TAYAR THEN TREF=TAYAR-1

'-----'

HPWM 2,DUTY,500

PAUSE 970

'-----'

GOTO DONGU1

,*****
*****

T_OLCUM:

```

```
FOR I=1 TO 50
  ADCIN 0,T
  TOTAL=TOTAL+T
NEXT I
T=TOTAL/50
TOTAL=0
RETURN
;*****
*****
TREF_OLCUM:
  FOR I=1 TO 50
    ADCIN 0,TREF
    TOTAL=TOTAL+TREF
  NEXT I
  TREF=TOTAL/50
  TOTAL=0
RETURN
;*****
*****
END
```

