

บทที่ 2 วิวัฒนาการของวิชาจุลชีววิทยา

ประวัติศาสตร์คือเรื่องราวความสำเร็จของบุรุษหรือสตรีแต่มีกับบันทึกชื่อและเหตุการณ์ที่เด่นไว้เพียงเล็กน้อย สิ่งซึ่งมีคุณค่าสำคัญหลายอย่างที่คุณจะได้กระทำนั้นมักถูกลืมชื่อและความสามารถของเขาจะถูกทำให้สูญหายไปในเวลาต่อมาหรือถูกชุกซ่อนไว้โดยความเห็นชอบของผู้บันทึกเหตุการณ์ โดยทางวิทยาศาสตร์ได้กล่าวกันว่าเกียรติยศจะปรากฏแก่บุคคลซึ่งทำให้โลกสนใจไม่ใช่ปรากฏแก่บุคคลซึ่งได้เกิดความคิดเป็นคนแรก ดังนั้นเรื่องราวเกี่ยวกับวิวัฒนาการทางจุลชีววิทยาชื่อที่เด่นจึงปรากฏแก่บุคคลซึ่งทำให้โลกสนใจ เช่นบุคคลที่ได้ปรับปรุงกลวิธีการ เครื่องมือ หรือแนวความคิดซึ่งเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปหรืออธิบายถึงปรากฏการณ์ได้อย่างชัดเจนหรือเร้าอารมณ์ทำให้วิทยาศาสตร์เจริญก้าวหน้า ตัวอย่างเช่น

Leeuwenhoek ได้รายงานเกี่ยวกับจุลินทรีย์อย่างกระฉ่างแจ้งช่วยให้ Louis Pasteur ในอีก 200 ปีต่อมาค้นพบว่าจุลินทรีย์เกี่ยวข้องในขบวนการหมักต่าง ๆ และ Koch, Smith, Pasteur และบุคคลอื่นค้นพบว่าจุลินทรีย์มีส่วนเกี่ยวข้องกับโรค Koch ได้เป็นที่รู้จักเนื่องจากการคิดแยกแบคทีเรียซึ่งทำให้เกิดโรค anthrax และวัณโรค (tuberculosis) และได้ตั้งกฎเกณฑ์ซึ่งรัดกุมก่อนที่จะกำหนดว่าแบคทีเรียใดเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคชนิดหนึ่ง ความสำคัญในการช่วยเหลือเสริมสร้างวิทยาการทางจุลชีววิทยาทำให้เขาได้รับรางวัลโนเบล (Nobel prize) ในปี 1905

ครึ่งสมัยเมื่อมีการชุดคลองปานามา Walter Reed ได้ศึกษาถึงการระบาดของโรคไข้เหลืองโดยอาศัยแนวทางของ Theobald Smith ซึ่งได้ศึกษาการถ่ายทอดโรค Texas fever มาก่อนหน้านี้แล้ว

Widal และ Wasserman ได้เสนอความคิดและเครื่องมือเพื่อการวินิจฉัยโรคในห้องปฏิบัติการ Paul Ehrlich ได้ตรวจสอบเพื่อค้นหาสารเคมีที่ทำลายเชื้อซิฟิลิสในร่างกายมนุษย์โดยไม่ทำลายเซลล์เนื้อเยื่อจึงเป็นการปูทางทำให้มีการปรับปรุงการใช้สารเคมีเป็นยารักษาโรค และได้รับรางวัลโนเบลรวมกับ Elie Metchnikoff ในปี 1908

ประวัติศาสตร์ไม่เพียงแต่เกี่ยวข้องกับเรื่องราวที่ผ่านมาเท่านั้น แต่ประวัติศาสตร์ยังช่วยให้วิทยาการในปัจจุบันเจริญก้าวหน้าไปด้วยการค้นพบใหม่

กล้องจุลทรรศน์

วิชาจุลชีววิทยาได้เริ่มขึ้นเมื่อมนุษย์เรียนรู้วิธีการผสมเลนส์จากชิ้นแก้วแล้วนำมาประกอบกันเข้าจนมีกำลังขยายมากขึ้นเพียงพอทำให้มองเห็นจุลินทรีย์ได้ ในระหว่างศตวรรษที่ 18 Roger Bacon ได้เสนอว่าโรคเกิดขึ้นโดยสิ่งมีชีวิตซึ่งมองไม่เห็นและข้อเสนอนี้ได้ถูกกล่าวขึ้นมาอีกโดย Fracastoro แห่งวิโรนา (1483-1553) และ von Plenciz ในปี 1762 แต่ไม่ได้มีการพิสูจน์ ในปี 1658 พระชื่อ Kircher ได้อ้างถึงเวอร์ม (worm) ซึ่งมองไม่เห็นด้วยตาเปล่าในก้อนเนื้อ น้ำนม ร่างกายที่เน่าเปื่อยและอุจจาระของคนซึ่งเป็นโรคท้องร่วง ถึงแม้การบรรยายของเขาจะขาดความแน่นอน Kircher ก็เป็นคนแรกที่ยอมรับถึงความสำคัญของแบคทีเรียและจุลินทรีย์ในการทำให้เกิดโรคในปี 1665 Robert Hooke ได้เห็นและบรรยายถึงเซลล์ในชิ้นไม้คอร์กและได้เสนอข้อเท็จจริงว่า “ร่างกายของพืชหรือสัตว์ซึ่งซับซ้อนนั้นก็ยังประกอบด้วยส่วนเบื้องต้นเพียงไม่กี่อย่างซ้ำ ๆ กัน” คำกล่าวอ้างเช่นนี้ไม่ได้มาจาก Hooke แต่มาจาก Aristotle ซึ่งบรรยายเกี่ยวกับเซลล์โครงสร้างของสิ่งมีชีวิตเมื่อก่อนคริสต์ศักราช

ถึงแม้ว่า Antony van Leeuwenhoek ชาวฮอลแลนด์ ในปี 1632-1723 อาจไม่ใช่บุคคลแรกที่มองเห็นแบคทีเรียและโปรโตซัวก็ตามแต่เป็นบุคคลแรกที่ได้รายงานข้อสังเกตของเขาด้วยรายละเอียดและวาดรูปจุลินทรีย์อย่างถูกต้องโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่เขาสร้างขึ้นเอง ในช่วงระยะเวลาของเขาได้ผลิตกล้องจุลทรรศน์ขึ้นเองเป็นจำนวนมากกว่า 250 กล้อง และมีกำลังขยายสูงสุดได้เพียง 200 ถึง 300 เท่า กล้องจุลทรรศน์เหล่านี้มีลักษณะใกล้เคียงกับกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างแบบประกอบ (compound light microscope) ในปัจจุบันซึ่งมีกำลังขยายตั้งแต่ 1,000 ถึง 3,000 เท่าอย่างมาก

ก่อนช่วงระยะเวลาของ Louis Pasteur การศึกษาทางจุลชีววิทยาส่วนใหญ่มีมุมมองไปในแง่ของการเกิดจุลินทรีย์ สันฐานวิทยาและความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานกับสิ่งมีชีวิตชั้นสูงโดยไม่ได้เน้นถึงความสำคัญในด้านการหมักและการทำให้เกิดโรค

การเกิดขึ้นเองของสิ่งมีชีวิตกับการเกิดจากสิ่งมีชีวิตด้วยตนเอง

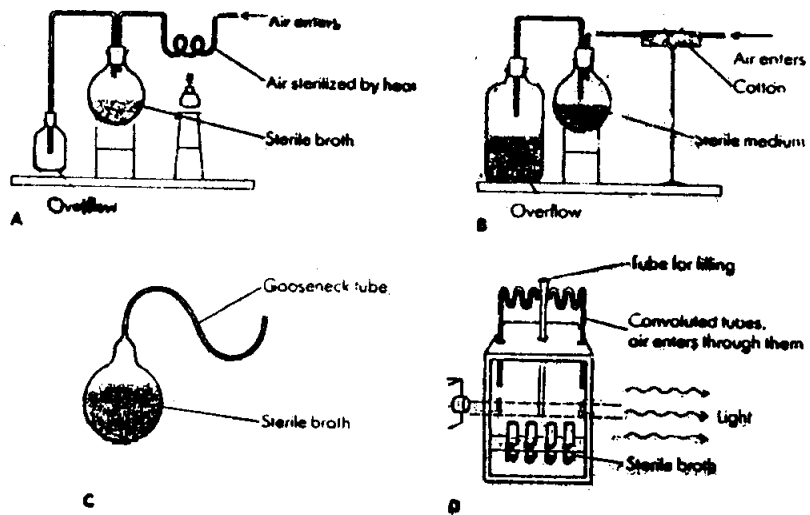
การค้นพบจุลินทรีย์กระตุ้นให้เกิดความสนใจเกี่ยวกับจุดเริ่มต้นของสิ่งมีชีวิตและมีการโต้แย้งกันอย่างเผ็ดร้อนในขณะที่มนุษย์รู้จักเพียงแค่สิ่งมีชีวิตชั้นสูง ชาวกรีกอธิบายว่าเทพเจ้าซีอัส (Gea) ได้สร้างคนขึ้นจากก้อนหินและสิ่งไม่มีชีวิตต่าง ๆ แม้แต่ Aristotle ก่อนปีคริสต์ศักราชประมาณ 400 ปี ได้คิดว่าสัตว์ทั้งหลายมีกำเนิดขึ้นได้เองจาก ดิน พืช หรือสิ่งอื่นที่ไม่ใช่สัตว์ ความเชื่อของเขามีอิทธิพลเป็นอย่างมากต่อความรู้สึกของมนุษย์จนกระทั่งถึงศตวรรษที่ 17 ตัวอย่างเช่นในสมัยนั้นมีคนเชื่อว่าตัวหนอนสามารถเกิดขึ้นได้เองจากก้อนเนื้อที่อุ่นและสัมผัสกับอากาศแต่ Francesco Redi (1626-1697) ได้มีความสงสัยแล้วทำการพิสูจน์โดยนำก้อนเนื้อใส่ไว้ในขวดโหลแล้วปิดด้วยผ้าขาวบาง กลิ่นของก้อนเนื้อทำให้แมลงวันบินเข้ามาไต่บนผ้าขาวบางแล้วเจริญเป็นตัวหนอน จึงทำให้ความเชื่อเรื่องสิ่งมีชีวิตเกิดขึ้นได้เองจากสิ่งไม่มีชีวิตค่อยๆเลือนหาย แต่เมื่อมีการค้นพบจุลินทรีย์ก็กลับทำให้แน่ใจว่าสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ เหล่านั้นเกิดขึ้นได้เองโดยไม่ต้องมีพ่อแม่

ในปี 1749 John Needham ได้ทดลองเกี่ยวกับก้อนเนื้อที่สุกใหม่พบว่าเมื่อตอนเริ่มต้นไม่มีจุลินทรีย์อยู่เลยแต่ต่อมากลับพบว่าเนื้อเน่าเสียและมีจุลินทรีย์เกิดขึ้นจึงทำให้เชื่อว่าจุลินทรีย์เกิดขึ้นจากก้อนเนื้อ ในระยะเวลาเดียวกัน spallanzani (1729-1799) ได้ทำการทดลองโดยต้มน้ำซุบน้ำเนื้อเป็นระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงแล้วปิดปากภาชนะให้สนิท ปรากฏว่าไม่มีจุลินทรีย์เกิดขึ้น การทดลองของเขาได้กระทำซ้ำหลายหนก็ได้ผลเช่นเดียวกันแต่ไม่สามารถขัดแย้ง Needham ได้ เนื่องจาก Needham อ้างว่าการเกิดขึ้นเองของจุลินทรีย์ต้องอาศัยอากาศและการปิดปากภาชนะให้สนิทเป็นการป้องกันอากาศไม่ให้เข้าไป ข้อโต้แย้งอันนี้ได้ถูกตอบในระยะเวลาอีก 60-70 ปีต่อมา Franz Schulze (1819-1873) และ Theodor Schwann (1810-1882) ได้ศึกษาแยกกัน Schulze ได้เป่าอากาศผ่านกรดแก่เข้มข้นเข้าไปในน้ำซุบน้ำเนื้อที่ต้มแล้ว และ Schwann ได้เป่าอากาศผ่านท่อที่ร้อนแดงเข้าไปในน้ำซุบน้ำเนื้อที่ต้มแล้ว ปรากฏว่าไม่มีจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้ทั้งสองกรณีแต่ไม่อาจโต้แย้งความเชื่อเรื่องสิ่งมีชีวิตเกิดขึ้นเองได้ เนื่องจากกรดและความร้อนเปลี่ยนคุณสมบัติของอากาศจนไม่สามารถสนับสนุนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ ประมาณปี 1850 Schroder และ von Dusch ได้ทำการทดลองที่นำเชื้อถือโดยเป่าอากาศผ่านท่อสำลีสกลงไปในน้ำซุบน้ำเนื้อที่ต้มแล้ว จุลินทรีย์จากอากาศจะถูกกรองด้วยสำลีทำให้ไม่มีจุลินทรีย์เข้าไปเจริญเติบโตอยู่ในน้ำซุบน้ำเนื้อ กลวิธีของเขาจึงเป็นพื้นฐานเริ่มต้นของการใช้จุกสำลีอุดปากหลอดเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

ข้อคิดเกี่ยวกับการเกิดขึ้นเองของสิ่งมีชีวิตได้ถูกรวบรวมเป็นครั้งสุดท้ายโดย Pouchet ซึ่งได้พิมพ์เป็นหนังสือขึ้นในปี 1859 จึงเป็นการท้าทายความสามารถและความดีรู้ของ Louis Pasteur (1822-1895) Pasteur ได้ทำการทดลองซึ่งทำให้หมดข้อโต้แย้งโดยสิ้นเชิง เขาได้บรรจุอาหารเหลวลงในขวดคอกห่านที่จัดเตรียมขึ้นดังในรูปที่ 2-16 แล้วต้มให้เดือดและตั้งทิ้งไว้ อากาศสามารถผ่านเข้าออกจากขวดได้โดยอิสระแต่จุลินทรีย์จะตกค้างอยู่ในคอห่านนั้นและอาหารในขวดจะปรากฏว่าไม่มีจุลินทรีย์อยู่เลยถึงแม้ได้ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลานานก็ตาม

ในท้ายที่สุด John Tyndall (1820-1893) ได้ทำการทดลองในกล่องพิเศษที่จัดเตรียมขึ้นพิสูจน์ว่าจุลินทรีย์ปะปนอยู่กับฝุ่นละอองในอากาศ ถ้าไม่มีฝุ่นละอองอาหารที่ปราศจากเชื้อซึ่งเก็บไว้ในกล่องจะยังคงปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ตลอดไป

รูปที่ 2-1 The theory of spontaneous generation was disproved with the devices illustrated here, all of which eliminated airborne bacteria. Schwann heat-sterilized the air which flowed through the glass tube to his culture flask (A). Schröder and von Dusch filtered the air entering the culture flask through cotton (B). Simple goosenecked flasks (C) were devised by Pasteur. Tyndall constructed a dust-free incubation chamber (D).



ทฤษฎีการเกิดโรคเนื่องจากจุลินทรีย์

ก่อนที่ Louis Pasteur จะได้ทำการพิสูจน์ว่าแบคทีเรียเป็นสาเหตุของโรคบางชนิด ก็มีนักศึกษาหลายท่านได้แสดงข้อโต้แย้งเกี่ยวกับทฤษฎีการเกิดโรคเนื่องจากจุลินทรีย์ไว้มากมายแต่ไม่ได้มีการพิสูจน์ Fracastoro ได้เสนอว่าโรคอาจต้องเกิดขึ้นจากสิ่งมีชีวิตซึ่งมองไม่เห็นที่ถูกถ่ายทอดจากคนหนึ่งไปสู่อีกคนหนึ่ง ในปี 1762 von Pleniz ไม่เพียงแต่กล่าวว่าจุลินทรีย์เป็นสาเหตุของโรคเท่านั้นแต่ยังสงสัยด้วยว่าจุลินทรีย์ต่างชนิดก็ทำให้เกิดโรคได้ต่างกัน

Oliver Wendell Holmes (1809-1894) เป็นหมอซึ่งมีชื่อเสียงได้ให้ข้อคิดเห็นว่าโรคนั้นอาจติดต่อกันได้และเกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ซึ่งถูกนำพาไปจากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกคนหนึ่งโดยนางผดุงครรภ์และหมอ ในระยะเวลาที่ใกล้เคียงกันนายแพทย์ชาวฮังการีชื่อ Ignaz Philipp Semmelweis (1818-1865) ได้เป็นผู้บุกเบิกในการใช้ยาฆ่าเชื้อ (antiseptic) เพื่อการทำคลอดจึงทำให้การตายของเด็กเกิดใหม่เนื่องจากการติดเชื้อ (infection) ลดลงและได้เขียนเป็นหนังสือขึ้นแต่แพทย์ส่วนใหญ่ในขณะนั้นได้ละเลยข้อแนะนำของเขาจนกระทั่งถึงปีประมาณ 1890 เมื่องานของ Lister ในประเทศอังกฤษได้เป็นที่รู้จัก ความสำคัญของยาฆ่าเชื้อจึงได้ถูกยอมรับโดยนายแพทย์ต่าง ๆ

Louis Pasteur ได้เริ่มต้นอาชีพของเขาเป็นศาสตราจารย์ทางเคมีที่ประเทศฝรั่งเศส อุตสาหกรรมหลักของฝรั่งเศสในขณะนั้นคือการทำเหล้าองุ่นและเบียร์ Pasteur ได้ศึกษาวิธีการและขบวนการเพื่อช่วยเพื่อนบ้านของเขาผลิตเหล้าองุ่นคุณภาพดี เขาพบว่าขบวนการหมักผลไม้และข้าวทำให้เกิดแอลกอฮอล์เป็นผลเนื่องมาจากจุลินทรีย์ในเหล้าองุ่นที่ดีมีจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียวอยู่เป็นจำนวนมากแต่ในเหล้าองุ่นที่เสียมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นหลายชนิดจำนวนมากปะปนอยู่ จากการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตทำให้ได้เหล้าองุ่นที่ดีและสม่ำเสมอ แต่เนื่องจากในน้ำองุ่นมักพบว่ามีจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ปะปนอยู่ก่อนแล้วจึงต้องกำจัดออกแล้วทำให้เกิดการหมักขึ้นใหม่โดยใช้เชื้อจากถังหมักที่ทำให้ได้เหล้าองุ่นคุณภาพดี Pasteur แนะนำว่าจุลินทรีย์พวกที่ไม่ต้องการซึ่งพบอยู่ในน้ำองุ่นอาจถูกกำจัดออกได้โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิไม่สูงเกินไปจนทำให้ผลไม้เสียรสชาติแต่เพียงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ซึ่งไม่ต้องการ เขาพบว่าอุณหภูมิ 145°F เป็นเวลาครึ่งชั่วโมงก็เพียงพอในการกำจัดจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในน้ำผลไม้ซึ่งนำมาหมักเป็นเหล้าองุ่น ขบวนการนี้ต่อมาได้ถูกเรียกชื่อให้เป็นเกียรติแก่เขาว่า Pasteurization ปัจจุบันขบวนการ Pasteurization ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการหมักอย่างกว้างขวางแต่ที่คุ้นเคยกันมากที่สุดคือนำมาใช้ในอุตสาหกรรมนมเพื่อทำลายจุลินทรีย์ซึ่งทำให้เกิดโรคในน้ำนม

ความสำเร็จของ Pasteur ในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับการหมักทำให้เขาได้รับการขอร้องจากรัฐบาลฝรั่งเศสเพื่อศึกษาเกี่ยวกับโรคหนองใหม่ซึ่งกำลังทำลายอุตสาหกรรมเลี้ยงไหมของฝรั่งเศสอยู่ในขณะนั้น เขาได้คร่ำเคร่งอยู่กับปัญหานี้เป็นเวลาหลายปี ท้ายที่สุดก็สามารถคิดแยกเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคได้ ต่อมาเขาได้แสดงให้เห็นว่าชาวนาผู้เลี้ยงไหม

อาจสามารถกำจัดโรคได้โดยเลือกใช้นอนใหม่ที่แข็งแรงปราศจากโรคเป็นพ่อพันธุ์แม่พันธุ์เท่านั้น

เปลี่ยนจากอุตสาหกรรมผ้าไหมก็เป็นชนสัตว์ Pasteur ได้ต่อสู้ปัญหาเกี่ยวกับโรคแอนแทรกซ์ (anthrax) ของวัว ควาย และแกะ รวมทั้งอาจเป็นโรคของคนด้วย ในบางครั้งเขาได้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในขวดทดลองหลังจากคัดแยกเชื้อจากเลือดของสัตว์ที่ตายด้วยโรคนี้ ขณะเดียวกัน Robert Koch (1843-1910) ก็ได้ศึกษาปัญหาของโรคแอนแทรกซ์ในประเทศเยอรมันพบว่าในเลือดของสัตว์ที่ตายด้วยโรคแอนแทรกซ์มีแบคทีเรียรูปร่างเป็นท่อนปลายตัดอาศัยอยู่ เขาได้เพาะเลี้ยงแบคทีเรียนี้ในห้องทดลองแล้วตรวจสอบดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อทำให้แน่ใจว่ามีเพียงชนิดเดียวและฉีดเข้าไปในสัตว์อื่นเพื่อตรวจสอบดูว่าสามารถทำให้เกิดโรคแอนแทรกซ์ขึ้นได้หรือไม่ ในสัตว์ทดลองที่แสดงอาการของโรคแอนแทรกซ์หลังจากฉีดเชื้อเข้าไปพบว่าแบคทีเรียเหมือนกับในสัตว์ตัวแรกที่ตายด้วยโรคแอนแทรกซ์ การทดลองของ Koch จึงนับเป็นครั้งแรกที่พิสูจน์ว่าแบคทีเรียเป็นสาเหตุหนึ่งซึ่งทำให้เกิดโรคขึ้นได้ (ปัญหาการหมักเหล้าองุ่นเกี่ยวข้องกับยีสต์และโรคของนอนใหม่ที่ Pasteur ศึกษาเกี่ยวข้องกับโปรโตซัวมากกว่าแบคทีเรีย) Koch ได้ตั้งข้อสมมุติฐานเกี่ยวกับการพิสูจน์โรคไว้ 4 ข้อเรียกว่า Koch's postulates คือ (1) โรคใดโรคหนึ่งมักพบว่ามีจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งโดยเฉพาะร่วมอยู่ด้วยเสมอ (2) จุลินทรีย์ชนิดนั้นอาจถูกคัดแยกแล้วนำมาเพาะเลี้ยงเป็นเชื้อบริสุทธิ์ในห้องทดลองได้ (3) เชื้อบริสุทธิ์ที่คัดแยกได้จะทำให้เกิดโรคขึ้นเมื่อนำไปใส่ (inoculate) ลงในสัตว์ที่ยอมรับ (4) จุลินทรีย์ชนิดเดียวกันยังอาจถูกคัดแยกได้อีกจากสัตว์ทดลองที่ถูกทำให้ติดโรค (infect)

ความคิดเห็นเกี่ยวกับเชื้อบริสุทธิ์

เชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture) ของแบคทีเรียได้ถูกทำขึ้นเป็นครั้งแรกโดย Joseph Lister ในปี 1878 โดยการทำให้เจือจางเป็นลำดับในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (liquid medium) Lister ได้ใช้หลอดดูดแบบพิเศษทำให้น้ำนมซึ่งมีแบคทีเรียผสมกันอยู่เจือจางลงจนกระทั่งเหลือแบคทีเรียเพียงเซลล์เดียวใส่ลงในภาชนะบรรจุหม้ออันหนึ่งซึ่งปราศจากเชื้อ (sterile) หลังจากบ่ม (incubate) ภาชนะบรรจุหม้อซึ่งมีแบคทีเรียเพียงเซลล์เดียวจะทำให้ได้แบคทีเรียเพียงชนิดเดียวอยู่ในภาชนะนั้นเป็นจำนวนมากและเกิดขึ้นมาจากเซลล์ ๑ เดียวกัน จึงจัดว่าเป็นเชื้อบริสุทธิ์ Lister ได้ตั้งชื่อแบคทีเรียชนิดนี้ว่า *Bacterium lactis*

คำว่าเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) ต่อมาได้มีผู้คิดว่าไม่สู้เหมาะสมนักเพราะอาจหมายถึง

ความบริสุทธิ์ทางสายพันธุ์หรือพันธุกรรมได้ จึงแนะนำว่าควรใช้คำว่า axenic culture หมายถึง สภาวะซึ่งสิ่งมีชีวิต เช่น แบคทีเรีย พังใจ สาหร่าย โปรโตซัว หรือสิ่งมีชีวิตชั้นสูงถูกเลี้ยงอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ปราศจากสิ่งมีชีวิตอื่น

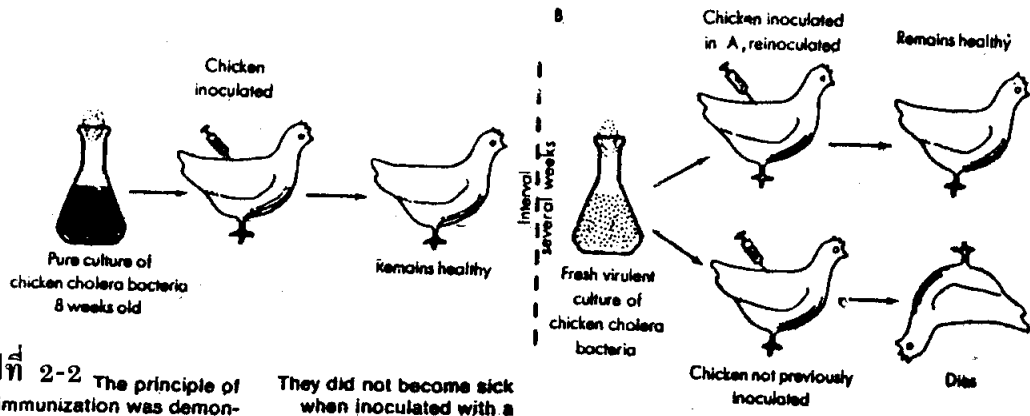
ขณะที่ Koch กำลังศึกษาแบคทีเรียด้วยวิธีการที่ละเอียดอ่อนอย่างระมัดระวังพบว่าการป้ายหรือทา (smear) เชื้อแบคทีเรียบนกระจกสไลด์แล้วเติมสีย้อมลงไปทำให้สามารถมองเห็นเซลล์เดี่ยว ๆ ของแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น เขาได้เติมเจลาตินหรือสารซึ่งแข็งตัวได้เช่นวุ้น (Agar) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (medium) เพื่อให้จุลินทรีย์แต่ละเซลล์เจริญเติบโตแยกกันเป็นกลุ่มเรียกว่า โคลนีย์ (colony) แต่ละโคลนีย์ประกอบด้วยจำนวนหลายล้านเซลล์ของแบคทีเรียเกาะติดอยู่ด้วยกัน จากแต่ละโคลนีย์เหล่านี้ถือว่าเป็นเชื้อบริสุทธิ์สามารถนำมาเพาะเลี้ยงต่อไปได้ ดังนั้นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แบบแข็ง (solid culture medium) ซึ่งมีความสำคัญจึงถูกค้นพบเป็นครั้งแรกโดย Koch

โดยใช้กลวิธีที่เขาได้แนะนำ Koch ทำการศึกษาสมหะของคนไข้ซึ่งเป็นวัณโรคปอดแล้วได้ประกาศการค้นพบจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรควัณโรค

ความสำคัญของเชื้อบริสุทธิ์ต่อความเจริญทางวิทยาการด้านจุลชีววิทยานั้นไม่อาจประมาณได้ โดยการใช้กลวิธีเกี่ยวกับเชื้อบริสุทธิ์ทำให้สามารถคัดแยก (isolate) และจัดแบ่งหมวดหมู่ (classify) ของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการหมัก (fermentation) จุลินทรีย์ที่จับยึดแอสไนโตรเจนและจุลินทรีย์อื่น ๆ ได้ อย่างไรก็ตามการยึดอยู่กับกลวิธีเกี่ยวกับเชื้อบริสุทธิ์และข้อสมมุติฐานของ Koch อย่างเหนียวแน่น ในบางครั้งก็เป็นการปิดหนทางทำให้ไม่สามารถศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ต่อไปได้ แต่ก่อนนักวิทยาศาสตร์ยังไม่ได้มีความรู้เกี่ยวกับไวรัสหรือเกี่ยวกับการส่งเสริมกันของจุลินทรีย์สองชนิดหรือมากกว่าในการทำให้เกิดโรคหรือทำให้เกิดการหมักที่ต้องการเช่นการบ่มเนยแข็ง เป็นต้น ปัจจุบันนักจุลชีววิทยาได้ให้ความสนใจเกี่ยวกับเชื้อผสมหรือเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ปนกันเป็นอย่างมาก ความเจริญของวิชาการจุลชีววิทยาทางทะเล จุลชีววิทยาเกี่ยวกับกระเพาะลำไส้ หรือกระเพาะของสัตว์เคี้ยวเอื้องและระบบอื่น ๆ มักเริ่มต้นด้วยการเข้าใจทางสรีรวิทยา (physiology) ของจุลินทรีย์เดี่ยว ๆ ในลักษณะที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์เสียก่อนแล้วจึงทำการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ทางนิเวศวิทยา (ecology) ของประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดในสิ่งแวดล้อมนั้น ผู้ที่ศึกษาโปรโตซัวโดยเฉพาะพวกที่เป็นพาราไซต์มักเสียเปรียบในแง่ว่าไม่อาจเพาะเลี้ยงโปรโตซัวในลักษณะของเชื้อบริสุทธิ์ได้

ขบวนการทำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรค (IMMUNIZATION)

Pasteur ได้ทำการค้นคว้าและค้นพบต่อไปเกี่ยวกับสาเหตุและการป้องกันโรคติดเชื้อ (infectious disease) ต่าง ๆ ประมาณปี 1880 เขาได้คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคคอตีบหวัด ไก่และเพาะเลี้ยงไว้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ Pasteur ได้ใช้กลวิธีของ Koch พิสูจน์ว่าเขาได้คัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งทำให้เกิดโรคคอตีบหวัดไก่อย่างแท้จริง ครั้งหนึ่งเขาได้ทดลองใส่เชื้อที่คัดแยกได้เข้าไปในไก่ซึ่งมีสุขภาพสมบูรณ์เพื่อแสดงแก่ประชาชน กลับปรากฏว่าไก่นั้นไม่ป่วยและไม่ตายทำให้เขาหมดกำลังใจเป็นอย่างมาก ต่อมาจึงพบว่าเขาได้บังเอิญใช้เชื้อเก่าซึ่งมีอายุหลายสัปดาห์แทนที่จะใช้เชื้อซึ่งคัดแยกได้ใหม่ ๆ หลังจากนั้นหลายสัปดาห์เขาได้ทดลองซ้ำอีกครั้งหนึ่งโดยใช้ไก่สองชุด ชุดหนึ่งได้รับการการใส่เชื้อเก่าไว้แล้วเมื่อคราวแสดงให้ประชาชนดูและอีกชุดหนึ่งยังไม่เคยได้รับเชื้อมาก่อน ไก่ทั้งสองชุดถูกฉีดด้วยเชื้อคอตีบหวัดที่คัดแยกได้ใหม่ ๆ พบว่าไก่ชุดที่สองป่วยและตายด้วยโรคคอตีบหวัดแต่ไก่ชุดแรกที่เคยได้รับเชื้อมาก่อนกลับยังคงแข็งแรงมีสุขภาพสมบูรณ์ปรากฏการณ์นี้ทำให้ Pasteur ประหลาดใจมากแต่ต่อมาเมื่อเขาสามารถอธิบายได้ มีวิธีทางบางอย่างทำให้แบคทีเรียสูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรค (virulence) เช่นตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งมีอายุมากขึ้น แต่แบคทีเรียซึ่งมีความสามารถในการทำให้เกิดโรคลดลง (attenuated bacteria) ยังคงมีความสามารถในการกระตุ้นให้ร่างกายของเจ้าบ้าน (host) สร้างสารบางอย่าง เช่น แอนติบอดี (antibody) ขึ้นต่อต้านเชื้อที่รุนแรง (virulent organism) ซึ่งอาจได้รับในเวลาต่อมาได้



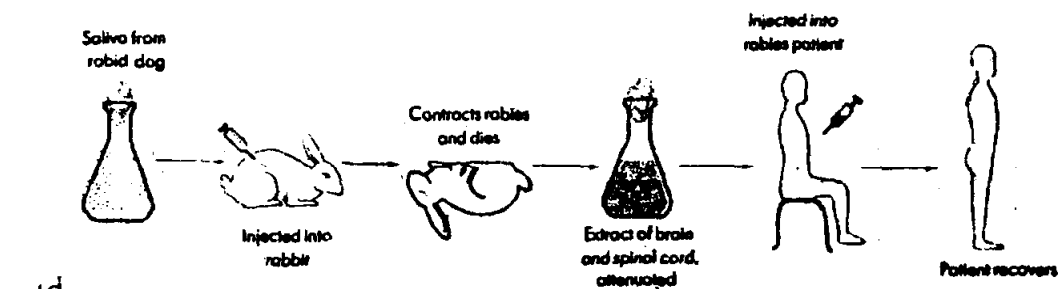
รูปที่ 2-2 The principle of immunization was demonstrated by Pasteur when he inoculated chickens with cultures of chicken cholera bacteria several weeks old and they remained healthy.

They did not become sick when inoculated with a fresh culture several weeks later although this fresh culture killed chickens that had not received the attenuated (old) culture.

การทดลองของ Louis Pasteur ได้อธิบายถึงหลักการความสำเร็จของ Jenner ในการใช้เชื้อไวรัสโรคฝีดาษวัว (cowpox virus) เพื่อทำให้คนมีภูมิคุ้มกันโรคฝีดาษ (smallpox) ต่อมา Pasteur ได้ใช้หลักการเกี่ยวกับเรื่องนี้เพื่อป้องกันโรคแอนแทรกซ์ปรากฏว่าได้ผลดี เขาได้เรียกเชื้อซึ่งหมดความสามารถในการทำให้เกิดโรคว่าวัคซีน (vaccine) ซึ่งมีรากศัพท์มาจากภาษาลาตินว่า vacca หมายถึงวัว เพื่อให้เป็นเกียรติแก่ Jenner ในการใช้หนองฝีของวัวมาทำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคฝีดาษในคน และเรียกขบวนการให้วัคซีนแก่ร่างกายว่า vaccination ทั้ง ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับวัวเลย

ชื่อเสียงของ Pasteur ได้แพร่กระจายไปทั่วประเทศฝรั่งเศสและเชื่อว่าเขาสามารถทำงานมหัศจรรย์เกี่ยวกับแบคทีเรียและควบคุมการติดโรคเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ เขาจึงได้รับการขอร้องให้ทำงานเกี่ยวกับโรคซึ่งมีผลต่อมนุษยชาติ เนื่องจาก Louis Pasteur ไม่ใช่หมอจึงเสี่ยงมากที่จะทำงานเกี่ยวกับโรคของคนแต่เขาก็ยอมรับเพื่อเป็นการช่วยเหลือมนุษยชาติ เขาได้เริ่มต้นทำวัคซีนป้องกันโรคคัลล์น้ำหรือโรคพิษสุนัขบ้า โรคนี้ติดต่อถึงคนได้โดยถูกสุนัข แมว หรือสัตว์อื่นกัดและเป็นโรคซึ่งไม่มีทางรักษา

ไวรัสซึ่งทำให้เกิดโรคคัลล์น้ำมีขนาดเล็กมากเกินกว่าจะมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ไม่อาจนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ โรคคัลล์น้ำอาจทำให้เกิดขึ้นกับกระต่ายได้โดยใส่น้ำลายจากสุนัขบ้าเข้าไปในร่างกาย สมองและไขสันหลังของกระต่ายที่เป็นโรคคัลล์น้ำถูกนำออกมาทำให้แห้งเป็นเวลาหลายวันแล้วบดให้เป็นผงผสมกับกรีเซอรินและ



รูปที่ 2-3 Rabies vaccine is made by inoculating a rabbit with saliva from a rabid dog. Virus in the extract of the rabbit's spinal cord is attenuated before injection into a patient.

ฉีดเข้าไปในสุนัขหรือคนเพื่อป้องกันโรคกลัวน้ำ ในกรณีของคนที่ถูกสุนัขบ้ากัด Louis Pasteur กังวลมากจึงฉีดเข้าไปเป็นเวลาหลายวัน หลักการเกี่ยวกับการป้องกันรักษาโรคกลัวน้ำของ Louis Pasteur ก็เช่นเดียวกันกับการปลูกฝีหรือฉีดวัคซีนป้องกันโรคฝีดาษของ Jenner

การขยายตัวของวิชาจุลชีววิทยา

ความสำเร็จของ Pasteur และ Koch ทำให้เขาได้รับเกียรติเป็นอย่างมาก Koch ได้รับการแต่งตั้งให้เป็นศาสตราจารย์ทางด้านสาหร่ายและผู้อำนวยการสถาบันโรคที่เกิดจากการติดเชื้อซึ่งตั้งขึ้นเพื่อเขาที่มหาวิทยาลัยเบอร์ลิน ส่วนที่ประเทศฝรั่งเศสได้มีการจัดตั้งสถาบันพาสเจอร์ (Pasteur Institute) ในปารีสเมื่อปี 1888 เนื่องจากบุคคลทั้งสองได้มีผู้เข้ามาศึกษาจากทั่วโลกและนักศึกษาทั้งหลายได้นำเอาความรู้และน้ำใจจากเขาไปเผยแพร่ยังประเทศต่าง ๆ ในยุโรปและอเมริกา แบคทีเรียชนิดใหม่ได้ถูกค้นพบเกือบทุกวันและความสามารถของแบคทีเรียเหล่านั้นในการทำให้เกิดโรคได้ถูกพิสูจน์โดยสมมุติฐานของ Koch

การศึกษาได้ขยายออกไปถึงโรคอื่น ๆ อย่างรวดเร็ว หลังจาก Edwin Klebs และ Frederick Loeffler ได้ค้นพบแบคทีเรียซึ่งทำให้เกิดโรคคอตีบ (diphtheria bacillus) และทำให้แบคทีเรียนี้สร้างสารพิษขึ้นได้ในขวดทดลอง Emil von Behring และ Shibasaburo Kitasato ได้เสนอวิธีการทำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคซึ่งเกิดขึ้นจากจุลินทรีย์นี้โดยฉีดสารพิษ (toxin) เข้าไปในสัตว์จนกระทั่งเกิด antitoxin (สารซึ่งทำให้สารพิษเป็นกลาง) ขึ้นแล้วจึงนำออกมาฉีดใส่ให้แก่คนในทำนองเดียวกัน Kitasato ได้เพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium tetani* และ Von Behring ได้ผลิต antitoxin สำหรับป้องกันและรักษาโรคชากรรไกรค้าง ในช่วงระยะนั้น D.E. Salmon และ Theobald Smith ได้แสดงให้เห็นว่าภูมิคุ้มกันการติดโรคหลายชนิดอาจทำให้เกิดขึ้นได้โดยฉีดเชื้อจุลินทรีย์ที่ตายแล้วเข้าไปในร่างกาย

การทำงานในห้องทดลองของ Pasteur ชาวรัสเซียชื่อ Elie Metchnikoff ได้อธิบายถึงกลวิธีของเม็ดโลหิตขาวในการกินแบคทีเรียซึ่งทำให้เกิดโรคในร่างกาย เขาได้เรียกตัวการป้องกันการติดโรค (infection) แบบพิเศษนี้ว่า phagocyte หมายถึงเซลล์ซึ่งมีการกักกิน และเรียกขบวนการนี้ว่า phagocytosis Metchnikoff ได้ให้ทฤษฎีว่า phagocyte เป็นด่านแรกของร่างกายและสำคัญมากในการต่อต้านและป้องกันการติดโรค

ในประเทศเยอรมันลูกศิษย์ของ Koch คนหนึ่งชื่อ Paul Ehrlich ได้เสนอแนวคิดเกี่ยวกับการทำลายแบคทีเรียของร่างกายที่แตกต่างออกไป เขาได้อธิบายถึงภูมิคุ้มกันโรคบนพื้นฐาน

ของสารละลายบางอย่างในเลือด Ehrlich ยังได้ทำการค้นพบสิ่งสำคัญอย่างอื่นซึ่งเปิดประตูนำไปสู่ความเจริญด้านการรักษาโรคด้วยสารเคมี (chemotherapy) และสารปฏิชีวนะ เขาได้ทำการทดสอบสารเคมีหลายชนิดพบว่าสารอินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งมีสารหนูเป็นองค์ประกอบสามารถใช้ทำลายเชื้อซิฟิลิส (syphilis) ในร่างกายได้ จึงถูกจัดเป็นยารักษาโรคภายในร่างกาย (chemo-therapeutic) ตัวแรกที่ได้ค้นพบและตรวจสอบอย่างถูกต้องโดยนักวิชาการ ช่วงระยะเวลาตั้งแต่ปี 1880 ถึง 1900 จึงถูกจัดเป็นยุคทองช่วงแรกของวิชาจุลชีววิทยา เนื่องจากวิทยาการด้านจุลชีววิทยาได้เจริญก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลานี้ ลูกศิษย์ของ Koch และ Pasteur ได้ทำการค้นพบต่อไปถึงสิ่งซึ่งเป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ และวิธีการวินิจฉัยโรคแบบใหม่ ๆ เช่น Widal test สำหรับตรวจสอบโรคไข้ไทฟอยด์ (typhoid fever) และ Wassermann test สำหรับตรวจสอบโรคซิฟิลิส ทำให้สามารถตรวจสอบโรคได้แน่นอนและรวดเร็ว

ยุคทองต่อมาของวิชาจุลชีววิทยาเริ่มต้นขึ้นอีกเมื่อประมาณปี 1945 จนถึงปัจจุบัน ในช่วงระยะเวลานี้แบคทีเรียและไวรัสได้ถูกแนะนำเข้ามาอยู่ในกระแสดารของวิชาชีววิทยาอีกครั้งหนึ่ง มีการวางรากฐานของวิชาชีววิทยาแขนงใหม่ต่าง ๆ เช่น ชีววิทยาระดับโมเลกุล ซึ่งเป็นวิทยาการที่ต้องอาศัยความรู้จากการศึกษาจุลชีววิทยา เนื่องจากจุลชีววิทยาเซลล์เดียวเป็นสิ่งมีชีวิตอย่างง่าย มีการเจริญเติบโตและสืบพันธุ์อย่างรวดเร็ว ทำให้สามารถศึกษาขบวนการของชีวิตที่ยุ่งยากซับซ้อนได้อย่างเกือบสมบูรณ์แบบ จุลชีววิทยาถูกใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษากลไกการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการศึกษาในพืชและสัตว์ชั้นสูงซึ่งมีเซลล์ประกอบกันเป็นเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ การศึกษายีน (gene) DNA และ RNA ก็กระทำได้ง่ายในแบคทีเรียและจุลชีววิทยาต่าง ๆ

วิชาจุลชีววิทยาได้ถูกจัดแบ่งให้เป็นสาขาหนึ่งของชีววิทยาตั้งแต่ปี 1900 ปัจจุบันมีโรคซึ่งเกิดขึ้นโดยการติดเชื้อเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่ยังไม่รู้จักด้วยความจริงที่ว่า โรคซึ่งเกิดขึ้นโดยการติดเชื้อจุลชีววิทยาบางอย่างอาจไม่รับการควบคุมเนื่องจากเป็นโรคซึ่งเกิดขึ้นกับสัตว์หรือพืชที่ไม่ได้อยู่ในความสนใจของมนุษย์และโรคบางอย่างก็เกิดขึ้นเนื่องจากการกระทำส่งเสริมกัน (synergistic action) ของจุลชีววิทยาหลายชนิดมนุษย์ได้รับการเรียนรู้ว่าจุลชีววิทยาสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมการเปลี่ยนแปลงสารเคมีให้เป็นผลผลิตซึ่งมีคุณค่า และจุลชีววิทยามีความสำคัญในด้านการเกษตร มนุษย์รู้จักกลวิธีการทำลายจุลชีววิทยาซึ่งไม่ต้องการหรือเป็นอันตราย และในบางครั้งก็ใช้ประโยชน์จากผลผลิตทางเมตาโบลิซึมของจุลชีววิทยาให้เป็นไปตามต้องการ