

# 1

## Ο κόσμος των μικροβίων

---

*Ως μικροοργανισμοί θεωρούνται οι οργανισμοί στους οποίους δε μπορούμε να ξεχωρίσουμε λεπτομέρειες με γυμνό μάτι (διάμετρος μικρότερη του 1 mm).*

Πριν την ανακάλυψη των μικροοργανισμών πιστευόνταν ότι όλα τα ζωντανά ήταν φυτά ή ζώα. Στο 19ο αιώνα έγινε γνωστό ότι οι μικροοργανισμοί συνδυάζουν ιδιότητες φυτών και ζώων και έτσι η τοποθέτησή τους στο ένα ή το άλλο βασίλειο γινόταν με βάση τις πιο χαρακτηριστικές διαφορές που παρουσιάζουν τα ζώα από τα φυτά και που είναι η δυνατότητα ενεργού μετακίνησης των ζώων και η ικανότητα φωτοσύνθεσης των φυτών. Έτσι τα πολυκύτταρα φύκη επειδή είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, στερούνται της δυνατότητας ενεργού μετακίνησης και επειδή σε πολλές περιπτώσεις μοιάζουν με φυτά, βρίσκουν τη φυσική τους θέση στο βασίλειο των φυτών. Οι μύκητες, αν και στερούνται της δυνατότητας φωτοσύνθεσης, επειδή δε μπορούν να μετακινηθούν, τοποθετούνται επίσης στα φυτά. Μικροοργανισμοί που έχουν τη δυνατότητα μετακίνησης συμπεριλαμβάνονται όλοι σε μια ομάδα του βασιλείου των ζώων, τα **εγχυματικά** (infusoria).

Μετά την παραδοχή της κυτταρικής θεωρίας (1840) έγινε αντιληπτό ότι τα εγχυματικά είναι μια πολύ ετερογενής ομάδα κυρίως σε ό,τι αφορά την κυτταρική τους οργάνωση, αφού περιλαμβάνει: τα **τροχόζωα** (rotifers) που είναι ασπόνδυλα πολυκύτταρα ζώα με οργάνωση που βασίζεται στην ύπαρ-

ξη διαφορετικών κυτταρικών τύπων τα **πρωτόζωα** με σχετικά μεγάλα και πολύπλοκα κύτταρα που παραμένουν στο βασίλειο των ζώων, αλλά λόγω της μονοκύτταρης τους δομής ως ξεχωριστή ομάδα και τα **βακτήρια** με πολύ μικρότερα και απλούστερα κύτταρα που αργότερα μεταφέρθηκαν στο βασίλειο των φυτών παρά την έλλειψη, στα πιο πολλά από τα μέλη τους, φωτοσυνθετικής ικανότητας.

Τα πρωτόζωα όμως αποδείχτηκε ότι ήταν αδύνατο να αντιμετωπιστούν ως μια αυτοτελής ομάδα ζώων αφού μερικά απ' αυτά διαθέτουν κυτταρικό περιβλήμα και έχουν ικανότητα φωτοσύνθεσης. Επίσης οι **μυξομύκητες** (slime molds) παρουσιάζουν ορισμένες δυσκολίες στην κατάταξη τους αφού στη βλαστική κατάσταση οι οργανισμοί αυτοί είναι φαγοτροφικοί και αμοιβαδοειδείς (όπως πολλά πρωτόζωα), σχηματίζουν όμως καρποσώματα όμοια σε μέγεθος και μορφή μ' εκείνα των μυκήτων· θα έπρεπε οι μυξομύκητες να ταξινομηθούν με τα πρωτόζωα στο βασίλειο των ζώων ή με τους μύκητες στα φυτά;

Για ν' αποφευχθούν αυθαίρετες ταξινομήσεις ορισμένων ενδιάμεσων ομάδων μικροοργανισμών ο Haeckel, το 1866, πρότεινε την ταξινόμηση όλων των μικροοργανισμών σε ξεχωριστό βασίλειο, αυτό των **πρωτίστων**. Κατά τον Haeckel τα πρώτιστα περιλαμβάνουν φύκη, πρωτόζωα, μύκητες και βακτήρια. Οι οργανισμοί αυτοί διακρίνονται από τα ζώα και τα φυτά από τη σχετικά καλή βιολογική τους οργάνωση αφού οι πιο πολλοί είναι **μονοκύτταροι ή κοινοκυτταρικοί**, ακόμα και τα λίγα πολυκύτταρα πρώτιστα όπως είναι τα μεγαλύτερα φύκη, στερούνται της **διαφοροποίησης** που οδηγεί στην ύπαρξη διαφορετικών ειδών κυττάρων και ιστών που συναντά κανείς σε φυτά και ζώα.

Στα μέσα όμως του 20<sup>ου</sup> αιώνα, κυρίως με τη βοήθεια της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας, βρέθηκε ότι τα βακτήρια διαφέρουν θεμελειωδώς από τις άλλες τρεις ομάδες του Haeckel. Τα φύκη, τα πρωτόζωα και οι μύκητες έχουν την ίδια κυτταρική κατασκευή με τα ανώτερα φυτά και ζώα και όλα μαζί χαρακτηρίζονται ως **ευκαρυωτικά**. Τα βακτήρια έχουν μια πιο αρχέγονη δομή και ονομάστηκαν **προκαρυωτικά**. Η παράλληλη (με την ηλεκτρονική μικροσκοπία) ανάπτυξη της Μοριακής Βιολογίας, έδωσε σημαντικές γνώσεις γύρω από τις λειτουργίες του κυττάρου και έγινε φανερό ότι οι δομικές διαφορές μεταξύ προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών κυττάρων είναι αποτέλεσμα σημαντικών διαφορών στον τρόπο με τον οποίο διεκπεραιώνονται οι κυτταρικές λειτουργίες όπως π.χ. η ροή των γενετικών πληροφοριών από το γενετικό υλικό στο κυτταρόπλασμα, ο μεταβολισμός που έχει σαν αποτέλε-

σμα την παραγωγή ενέργειας και η δίοδος υλικών διαμέσου των τοιχωμάτων του κυττάρου.

Ο όρος πρώτιστα περιλαμβάνει σήμερα μόνο τους ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς. Ο όρος φύκη χρησιμοποιείται στη Μικροβιολογία για όλους τους μικροοργανισμούς που περιέχουν χλωροφύλλη και που παράγουν οξυγόνο ως παραπροϊόν της φωτοσύνθεσης. Όμως, το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκάλυψε, ότι μια κύρια ομάδα φυκών, τα κυανοπράσινα φύκη, είναι καθαρά προκαρυωτικοί οργανισμοί και σήμερα ταξινομούνται σ' αυτούς με την ονομασία **κυανοπράσινα βακτήρια**.

Τα προκαρυωτικά χωρίζονται σε δυο ομάδες μικροοργανισμών, τα **ευβακτήρια**, στα οποία περιλαμβάνονται και τα κυανοπράσινα βακτήρια και τα **αρχαιοβακτήρια** τα οποία, αν και είναι μια ετερογενής ομάδα, διαφέρουν ουσιωδώς, κύρια σε ό,τι αφορά τη χημεία τους, από τα ευβακτήρια. Οι διαφορές μεταξύ ευβακτηρίων και αρχαιοβακτηρίων είναι τόσο θεμελιώδεις που ωθεί πολλούς μικροβιολόγους να αναθεωρήσουν τις απόψεις τους σε ό,τι αφορά τη θέση των αρχαιοβακτηρίων μεταξύ των οργανισμών αφού υποστηρίζεται η άποψη ότι οι οργανισμοί αυτοί απέχουν εξελικτικά από τα ευβακτήρια όσο απέχουν τα ευβακτήρια από τα ευκαρυωτικά. Στα αρχαιοβακτήρια περιλαμβάνονται 3 ομάδες προκαρυωτικών (μεθανιοβακτήρια, υπερυλόφιλα, θερμοοξινοφιλα) που διαβιούν σε ακραία, από άποψη συνθηκών, περιβάλλοντα. Αυτό φαίνεται να σχετίζεται με τη διαφορετική δομή της κυτταροπλασματικής τους μεμβράνης. Στους οργανισμούς αυτούς βρέθηκαν τα εξής χαρακτηριστικά που θέτουν υπό αμφισβήτηση τη θέση ότι είναι οι πιο αρχέγονοι κυτταρικοί οργανισμοί:

- στα λιποειδή της πλασματικής μεμβράνης οι πλευρικές αλυσίδες είναι συνδεδεμένες με τον κορμό του μορίου με αιθερικούς αντί των εστερικών δεσμών που απαντώνται σ' όλους τους άλλους οργανισμούς.
- Η RNA πολυμεράση που απομονώνεται από αρχαιοβακτήρια μοιάζει περισσότερο με αυτήν των ευκαρυωτικών παρά με την πολυμεράση των άλλων προκαρυωτικών αφού αποτελείται όπως και στα ευκαρυωτικά, από πολλές πρωτεϊνικές υπομονάδες.
- Από το κυτταρικό τους τοίχωμα απουσιάζει το μουραμικό οξύ που βρίσκει κανείς σ' όλα τα άλλα προκαρυωτικά.
- Η ριβοθυμίνη που απαντιέται στο tRNA των βακτηρίων απουσιάζει από τα αρχαιοβακτήρια. Επιπρόσθετα τα αρχαιοβακτήρια, όπως και τα ευκαρυωτικά, χρησιμοποιούν για την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης *methionyl-tRNA<sup>met</sup>* αντί του *formyl-methionyl-tRNA<sup>met</sup>* που χρησιμοποιούν τα άλλα προκαρυωτικά.

Τα ευβακτήρια περιλαμβάνουν 3 ομάδες μικροοργανισμών που διακρίνονται ή για τη χαρακτηριστική κατασκευή του κυττάρου τους (σπειροχαίτες) ή για τον υποχρεωτικό ενδοκυτταρικό τρόπο διαβίωσης τους (ΡΙκέτσιες και Χλαμύδια). Οι λόγοι του υποχρεωτικού ενδοκυτταρικού παρασιτισμού δεν είναι απόλυτα γνωστοί. Υπάρχουν ενδείξεις που δείχνουν ότι τα παράσιτα αυτά εξαρτώνται από τον ξενιστή για συνένζυμα και κυρίως για μεταβολίτες, πλούσιους σε ενέργεια, όπως το ATP. Στα ευβακτήρια συμπεριλαμβάνονται και τα μυκοπλάσματα (mollicutes) τα οποία χαρακτηρίζονται από την απουσία καθορισμένου κυτταρικού τοιχώματος με συνέπεια την πλειομορφική μορφολογία τους, την εξαιρετική ευαισθησία τους σε οσμωτικά ερεθίσματα και την ανθεκτικότητα τους σε αντιβιοτικά που ενεργούν στην σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος.

Οι **ιοί** ταξινομούνται επίσης ως μικροοργανισμοί, αν και διαφέρουν θεμελιωδώς απ' όλους τους οργανισμούς, αφού δεν έχουν κυτταρική οργάνωση. Ένας ιός αποτελείται από ένα αντίγραφο, συνήθως ενός μορίου (σπανίως λίγων) νουκλεϊκού οξέος (DNA ή RNA, ποτέ από τα δύο) που εγκλείεται σε πρωτεϊνικό περίβλημα, το **καψίδιο**. Σε πολλούς ιούς το καψίδιο με το νουκλεϊκό οξύ περιβάλλονται από άλλο περίβλημα που αποτελείται από πρωτεΐνες, λιποειδή και σάκχαρα (**φάκελος** του ιού).

Ένας αριθμός μεταδοτικών φυτικών ασθενειών, οφείλεται σε παράγοντες που ονομάζονται **ιοειδή**. Είναι μικρά μονόκλιωνα κυκλικά μόρια RNA που σχηματίζουν ραβδόμορφες κατασκευές (τμήματα των μορίων, με συμπληρωματικές βάσεις, ενώνονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου). Στερούνται καψιδίου.

Από τα παραπάνω είναι φανερό, ότι ο κόσμος των μικροοργανισμών περιλαμβάνει:

**Ακύτταρες βιολογικές  
οντότητες**

Ιοί  
Ιοειδή κ.ά.

**Προκαρωτικά**

Αρχαιοβακτήρια  
Ευβακτήρια

**Πρώτιστα ή Ευκαρυωτικά**

Μυξομύκητες  
Μύκητες  
Πρωτόζωα  
Φύκη

# 2

## Ιστορική αναδρομή στη Μικροβιολογία

---

### Η ανακάλυψη των μικροοργανισμών

Η ύπαρξη του μικροβιακού κόσμου ήταν άγνωστη μέχρι την ανακάλυψη του μικροσκοπίου (αρχές 17ου αιώνα). Αν και όλες οι πρωταρχικές ανακαλύψεις έγιναν με απλά μικροσκόπια (απλοί φακοί με μικρή εστιακή απόσταση), η παραπέρα πρόοδος έγινε με τα σύνθετα μικροσκόπια που αποτελούνται από σύστημα δύο φακών (προσοφθάλμιος και αντικειμενοφόρος) και που έχουν δυνατότητα μεγαλύτερης μεγέθυνσης.

Ο Ολλανδός έμπορος Antony van Leeuwenhoek (1632-1723) ήταν ο πρώτος που είδε μικροοργανισμούς, αν και ήταν ερασιτέχνης, όπως εξάλλου και όλοι οι εφευρέτες της εποχής του. Ο Leeuwenhoek είχε λίγη εκπαίδευση, καθόλου πανεπιστημιακή μόρφωση και ήξερε μόνο Ολλανδικά. Ήταν όμως τυχερός γιατί στην ίδια εποχή που άρχισε τις παρατηρήσεις του δημιουργήθηκε και η Βρετανική Βασιλική Εταιρεία για ανταλλαγή και δημοσίευση επιστημονικών εργασιών. Έτσι ο Leeuwenhoek έστειλε τα ευρήματά του με μορφή επιστολών στην επετηρίδα της Εταιρείας και έγινε δημοσίευση τους στην Αγγλική. Οι μεγεθύνσεις που πετύχαινε ο Leeuwenhoek με τα απλά μικροσκόπια του (που αποτελούνταν από ένα φακό)

κυμαίνονταν από 50 μέχρι 300 φορές. Ο Leeuwenhoek είχε φτιάξει εκατοντάδες τέτοια μικροσκόπια, μερικά από τα οποία σώζονται μέχρι σήμερα και έκανε εξαιρετικά σημαντικές παρατηρήσεις σε σπόρους, έμβρυα φυτών και ασπόνδυλων ζώων, σπερματοζώαρια και ερυθροκύτταρα γι' αυτό και θεωρείται θεμελιωτής της Ιστολογίας των ζώων. Ο ίδιος ήταν υπεύθυνος για την ανακάλυψη της τριχοειδούς κυκλοφορίας και συμπλήρωσε την εργασία του Harvey στην κυκλοφορία του αίματος που είχε αρχίσει 50 χρόνια πριν. Η ανακάλυψη όμως των μικροοργανισμών (animalcules), με την οποία ο Leeuwenhoek πρόσθεσε καινούργια διάσταση στις βιολογικές επιστήμες (1674), ήταν και η μεγαλύτερη του επιτυχία. Πρωτόζωα, φύκη, ζύμες και βακτήρια, περιγράφηκαν με τέτοια ακρίβεια που είναι δυνατόν από τις περιγραφές τους να καταλάβουμε, ακόμα και σήμερα, σε ποιά είδη αναφερόταν. Μετά το θάνατο του Leeuwenhoek, φαίνεται ότι τεχνικοί λόγοι δεν επέτρεψαν οποιαδήποτε πρόοδο στον τομέα, για πάνω από έναν αιώνα. Η κατασκευή μικροσκοπίων μεγάλης μεγέθυνσης είναι υπόθεση δύσκολη. Οι συνεχιστές της προσπάθειας του χρησιμοποίησαν σύνθετα μικροσκόπια, τα οποία όμως παρουσίαζαν πολλές ατέλειες. Ο Άγγλος Robert Hooke δε μπόρεσε να επαναλάβει με τα σύνθετα μικροσκόπια του τις λεπτομερείς παρατηρήσεις του Leeuwenhoek που έγιναν με απλά μικροσκόπια. Το 1820 φτιάχτηκαν βελτιωμένα σύνθετα μικροσκόπια σημερινού επιπέδου· οι βελτιώσεις συνεχίστηκαν για 50 χρόνια και προς το τέλος του 19ου αιώνα οι περισσότερες ομάδες μικροοργανισμών ήταν πια γνωστές. Στο διάστημα αυτό (δεύτερο ήμισυ του 19ου αιώνα) έγινε κατανοητός ο ρόλος των μικροοργανισμών στις μετατροπές της ύλης και στην πρόκληση ασθενειών.

## Η διαμάχη για την αυτόματη γένεση

Από την εποχή των ανακαλύψεων του Leeuwenhoek το ερώτημα που απασχολούσε τους επιστήμονες ήταν η προέλευση των μικροοργανισμών για την οποία τελικά επικράτησαν δύο σχολές. Μερικοί πίστευαν ότι τα μικρόβια προέρχονταν αυτόματα από όχι ζωντανά υλικά, ενώ άλλοι, συμπεριλαμβανομένου και του Leeuwenhoek, πίστευαν ότι τα μικρόβια προέρχονταν από τους σπόρους ή τους γόνους των «ζωοφίων» (animalcules) οι οποίοι βρίσκονται πάντα στον αέρα. Η πρώτη άποψη αποτελεί το δόγμα της «αυτόματης γένεσης» ή «αβιογένεσης» που από τους αρχαιότετους χρόνους θεωρούνταν αυταπόδειχτο. Όμως, καθώς οι γνώσεις για τους οργανισμούς εμπλουτίζονταν σιγά-σιγά έγινε φανερό ότι η αυτόματη γένεση φυτών και ζώων δεν είναι δυνατή.

Αποφασιστικό ρόλο για την εγκατάλειψη του δόγματος αυτού έπαιξε ο Ιταλός γιατρός Francesco Redi που έδειξε ότι τα σκουλήκια που αναπτύσσονται στο χαλασμένο κρέας δεν είναι τίποτα άλλο παρά το στάδιο προνύμφης μυγών, και τα οποία δεν εμφανίζονται αν το κρέας προστατευτεί με τοποθέτησή του σε κλειστό με βαμβάκι δοχείο, ώστε να εμποδίζονται οι μύγες να τοποθετούν σ' αυτό τ' αυγά τους.

Ο Ιταλός Φυσιολόγος Lazzaro Spallanzani ήταν ένας από τους πρώτους που παρουσίασε, στα μέσα του 18ου αιώνα, ισχυρές αποδείξεις εναντίον του δόγματος της αυτόματης γένεσης των μικροοργανισμών. Ο Spallanzani έδειξε ότι το βράσιμο στα οργανικά εκχυλίσματα εμποδίζει την εμφάνιση των «animalcules». Επίσης έδειξε ότι τα «animalcules» μεταφέρονται στα εκχυλίσματα με τον αέρα και ότι αυτό αποτελεί την εξήγηση ανάπτυξης «animalcules» σε καλά βρασμένα οργανικά εκχυλίσματα. Έτσι ο Spallanzani κατέληξε στο συμπέρασμα, ότι για να διατηρηθεί ένα οργανικό εκχύλισμα μόλις ελεύθερο από «animalcules» θα πρέπει να βραστεί και να κλειστεί αεροστεγώς. Άλλοι όμως επιστήμονες της εποχής έκαναν λανθασμένα πειράματα με τα οποία προωθούνταν το δόγμα της αυτόματης γένεσης των μικροοργανισμών.

Στις αρχές του 19ου αιώνα ο Francois Appert βρήκε ότι τα τρόφιμα μπορούν να διατηρηθούν για εξαιρετικά μεγάλα χρονικά διαστήματα αν τοποθετηθούν σε δοχεία που είναι αεροστεγώς κλειστά και που έχουν προηγουμένως βραστεί. Η πρωτόγονη αυτή κονσερβοποίηση που ονομάστηκε «**απ-περτοποίηση**» ήταν σε ευρεία διάδοση πριν τη διελεύκανση του θέματος της αυτόματης γένεσης των οργανισμών. Λίγο νωρίτερα, στα τέλη του 18ου αιώνα, οι εργασίες των Priestley, Cavendish και Lavoisier θεμελίωσαν τη χημεία των αερίων. Ένα από τα πρώτα αέρια που ανακαλύφθηκαν, το οξυγόνο, αναγνωρίστηκε ότι είναι ουσιώδες για τη ζωή των ζώων. Έτσι το ερμητικό κλείσιμο των εκχυλισμάτων, που εφαρμόστηκε από τον Appert, είναι αποτελεσματικό όχι μόνο επειδή εμποδίζει τα «animalcules» να εισέλθουν στο δοχείο μαζί με τον αέρα αλλά απέκλειε το οξυγόνο που είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη τους.

### **Τα πειράματα του Pasteur**

Γύρω στα 1860 οι επιστήμονες άρχισαν να κατανοούν ότι υπάρχει μια αιτιολογική σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται σε οργανικά εκχυλίσματα και των χημικών μεταβολών που συμβαίνουν σ' αυτά. Ο πρωτοπόρος ερευνητής αυτών των μεταβολών ήταν ο Louis Pasteur (1822-1895). Φυσικά η παραδοχή αυτής της σχέσης προϋποθέτει παραδοχή ότι το

δόγμα της αυτόματης γένεσης δεν ισχύει.

Ο Pasteur απόδειξε πρώτα ότι ο αέρας περιέχει μικροσκοπικά οργανωμένα σωματίδια ως εξής: Μεγάλες ποσότητες αέρα διοχετεύονται από σωλήνα με φίλτρο βαμβακιού· το βαμβάκι πλένεται σε μείγμα αιθανόλης-αιθέρα και το ίζημα εξετάζεται στο μικροσκόπιο. Στη συνέχεια, ο Pasteur επιβεβαίωσε ότι βρασμένος αέρας που διοχετεύεται σε βρασμένο οργανικό εκχύλισμα δε δίνει μικροβιακή ανάπτυξη, ενώ φίλτρα βαμβακιού που περιέχουν μικρόβια δίνουν μικροβιακή ανάπτυξη σε αποστειρωμένο εκχύλισμα. Με την επινόηση της μακρούλαιμης φιάλης ο Pasteur απόδειξε ότι ο αέρας περιέχει μικρόβια που εύκολα αποχωρίζονται απ' αυτόν αφού μόνο αέρας και όχι τα μικρόβια φτάνουν το εκχύλισμα που περιέχει. Σπάσιμο ή γέμισμα του λαιμού με υγρό έχει σαν αποτέλεσμα τη μόλυνση του περιεχομένου της φιάλης (Σχήμα 1). Τέλος με τα πειράματα του Pasteur αποδείχτηκε ότι τα μικρόβια δεν είναι ομοιογενώς μοιρασμένα στην ατμόσφαιρα.



*Σχήμα 1. Η φιάλη που χρησιμοποίησε ο Pasteur για να απορρίψει το δόγμα της αυτόματης γένεσης.*

### **Τα πειράματα του Tyndall**

Ενώ τα εκχυλίσματα από κρέας ή από φρέσκα λαχανικά αποστειρώνονται με βράσιμο σε αλμυρό νερό για πέντε λεπτά, εκχυλίσματα από ξηρό χορτάρι δεν αποστειρώνονται με τον ίδιο τρόπο.

Μετά από πολλά πειράματα ο Tyndall ανακάλυψε ότι το ξηρό χορτάρι περιέχει **σπόρια** βακτηρίων που είναι πολύ πιο ανθεκτικά στη θερμοότητα από οποιαδήποτε μικρόβια. Δηλαδή τα βακτήρια έχουν φάσεις, μια σχετικά **θερμοευαίσθητη** που καταστρέφεται με βράσιμο για πέντε λεπτά και μια **θερμοανθεκτική** που αντέχει μέχρι εξαιρετικά υψηλά επίπεδα θερμοκρασίας. Έτσι προχώρησε στην αποστείρωση με διακοπτόμενη θέρμανση, δια-



δικασία που αργότερα ονομάστηκε «**τυνταλλοποίηση**». Αφού τα κανονικά βακτήρια νεκρώνονται με σύντομο βράσιμο, αυτό που χρειάζεται όλο και όλο για την αποστείρωση ενός εκχυλίσματος είναι η βλάστηση των σπορίων που περιέχει και η καταστροφή τους με μετέπειτα βράσιμο. Έτσι ο Tyndall βρήκε ότι ενώ το συνεχές βράσιμο για μια ώρα δεν είναι αρκετό για την αποστείρωση ενός εκχυλίσματος, έξι διαδοχικά βρασίματα του ενός λεπτού αποστειρώνουν πλήρως το εκχύλισμα. Ενώ τα πειράματα των Pasteur και Tyndall αποδεικνύουν ότι οι μικροοργανισμοί δε δημιουργούνται σε κατάλληλα αποστειρωμένα εκχυλίσματα από το τίποτα, τα ίδια πειράματα δεν αποκλείουν, ότι η πρωταρχική προέλευση της ζωής πιθανόν να προήλθε από κάποιο είδος αυτόματης γένεσης κατάλληλων οργανικών μορίων που βρέθηκαν στις κατάλληλες συνθήκες. Η δημιουργία αυτή στα σίγουρα θα ήταν περισσότερο βαθμιαία και περίπλοκη απ' αυτήν που οραματιζόνταν οι υποστηρικτές του δόγματος της αυτόματης γένεσης του 18ου και 19ου αιώνα.

### **Ρόλος των μικροοργανισμών στη μετατροπή της οργανικής ύλης**

Την εποχή της διαμάχης για την αυτόματη γένεση αναγνωρίστηκε ότι υπάρχουν δύο τύποι χημικών μεταβολών που προκαλούνται από μικροοργανισμούς σε οργανικά εκχυλίσματα: η **ζύμωση**, δηλαδή η πορεία που οδηγεί στο σχηματισμό αλκοολών και οργανικών οξέων από φυτικά κυρίως υλικά που περιέχουν σάκχαρα και η **σήψη**, δηλαδή η διεργασία αποσύνθεσης με σχηματισμό δύσσομων προϊόντων, ζωικών ιστών οι οποίοι περιέχουν κυρίως πρωτεΐνες.

Το 1837 τρεις ερευνητές οι *Cogniard-Latour*, *Schwann* και *Kutzing* προτείνουν ανεξάρτητα ότι η ζύμη που εμφανίζεται στην αλκοολική ζύμωση είναι μικροσκοπικό φυτό και ότι η μετατροπή των σακχάρων, σε αλκοόλη και CO<sub>2</sub>, είναι αποτέλεσμα της δραστηριότητας των κυττάρων της ζύμης. Η θεωρία αυτή δέχτηκε επιθέσεις από φημισμένους χημικούς της εποχής, όπως οι Berzelius, Liebig και Wohler οι οποίοι πίστευαν ότι η ζύμωση και οι σήψεις είναι καθαρά χημικές διεργασίες.

Επειδή την εποχή εκείνη (1828) έγινε η σύνθεση στο εργαστήριο της πρώτης οργανικής ένωσης (ουρία) οι χημικοί πίστευαν ότι η ζύμωση και οι σήψεις ήταν ζήτημα απλών χημικών αντιδράσεων. Τελικά ο Pasteur με τις μελέτες του μεταξύ του 1857 και 1876 έπεισε ότι όλες οι ζυμώσεις είναι αποτέλεσμα μικροβιακών διεργασιών. Οι μελέτες του Pasteur στις ζυμώσεις ξεκίνησαν όταν οι παραγωγοί οινοπνεύματος από ζαχαρότευτλα της Lille είχαν δυσκολίες και γι' αυτό ζήτησαν από τον Pasteur να τους βοηθήσει. Αυτός δεν

άργησε να βρει ότι η αλκοολική ζύμωση που έπρεπε να έχουν, αντικαταστάθηκε από ένα άλλο είδος ζύμωσης που μετέτρεπε το σάκχαρο σε γαλακτικό οξύ. Μικροσκοπική εξέταση του μείγματος έδειξε ότι τα χαρακτηριστικά κύτταρα της ζύμης που βρίσκονται στην αλκοολική ζύμωση αντικαταστάθηκαν από πολύ μικρότερα κύτταρα με σφαιρική ή επιμήκη μορφή. Η «καινούργια ζύμη», όπως την ονόμασε τότε ο Pasteur, που ήταν ειδική για τη μετατροπή σακχάρων σε γαλακτικό οξύ αποδείχτηκε αργότερα ότι στην πραγματικότητα ήταν βακτήριο. Στα επόμενα χρόνια ο Pasteur μελέτησε μεγάλο αριθμό ζυμώσεων και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι κάθε είδος ζύμωσης, που καθεμιά χαρακτηρίζεται από τα τελικά προϊόντα, συνοδεύεται με την ανάπτυξη ειδικών μικροβίων τα οποία αναγνωρίζονται από το σχήμα, το μέγεθος και τις ειδικές συνθήκες περιβάλλοντος που ευνοούν την ανάπτυξη τους.

Μια άλλη ανακάλυψη που έκανε ο Pasteur, κατά τη διάρκεια μελετών του στη βουτυρική ζύμωση, ήταν και η διαπίστωση ύπαρξης μορφών ζωής που μπορούν να ζήσουν μόνο απουσία ελεύθερου οξυγόνου. Ο Pasteur παρατήρησε μικροσκοπικά, ότι σε υγρά που υποβάλλονται στη διαδικασία της βουτυρικής ζύμωσης τα βακτήρια της περιφέρειας των σταγόνων, τα οποία είναι σε άμεση επαφή με τον αέρα, είναι ακίνητα, ενώ αυτά που βρίσκονται προς το κέντρο κινούνται. Σύντομα επιβεβαίωσε την παρατήρηση αυτή με διοχέτευση αέρα σε υγρά βουτυρικής ζύμωσης όπου παρατήρησε επιβράδυνση ή τέλεια παύση της ζύμωσης. Τότε χρησιμοποιήθηκαν και οι όροι **αερόβιος** και **αναερόβιος** που σημαίνουν *ζωή παρουσία ή απουσία οξυγόνου* αντίστοιχα.

### **Φυσιολογική σημασία των ζυμώσεων**

Το ελεύθερο οξυγόνο είναι γενικά απαραίτητο για τους οργανισμούς αφού με την οξείδωση οργανικών ουσιών σε  $\text{CO}_2$  (αερόβιος αναπνοή) γίνεται διαθέσιμη ενέργεια που είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ζωής και της ανάπτυξης. Ο Pasteur είναι εκείνος που πρώτος αναγνώρισε το γεγονός ότι η διάσπαση οργανικών ενώσεων απουσία οξυγόνου μπορούσε να θεωρηθεί σαν τρόπος λήψης ενέργειας από ορισμένους οργανισμούς. Ορισμένοι αυστηρά αναερόβιοι μικροοργανισμοί, όπως π.χ. τα βακτήρια του βουτυρικού οξέος, εξαρτώνται από ζυμωτικούς μηχανισμούς για την εξασφάλιση της ενέργειας που τους χρειάζεται. Από την άλλη μεριά ορισμένοι μικροοργανισμοί έχουν την πολυτέλεια να έχουν στη διάθεση τους δυο δυνατότητες για την εξασφάλιση της ενέργειας. Παρουσία οξυγόνου χρησιμοποιούν «αερόβιο αναπνοή», ενώ απουσία του εφαρμόζουν αναερόβιο ζύμωση (**προαιρετικά αναερόβιοι**). Αυτό αποδείχτηκε από τον Pasteur που έδειξε ότι η ζάχαρη μετατρέπεται από τη ζύμη, απουσία αέρα, σε αλκοόλη και  $\text{CO}_2$ , ενώ

παρουσία αέρα σχηματίζει λίγη ή καθόλου αλκοόλη. Το κύριο τελικό προϊόν της αερόβιας πορείας είναι το  $\text{CO}_2$ .

Το ποσό αύξησης μιας καλλιέργειας ενός μικροοργανισμού σαν αποτέλεσμα της διάσπασης μιας οργανικής ουσίας είναι συνάρτηση της ενέργειας που ελευθερώνεται από τη διάσπαση αυτή. Επειδή στη ζύμωση μέρος της αρχικής ενέργειας διατηρείται στα οργανικά προϊόντα της η ζύμωση θεωρείται πορεία που ελευθερώνει μικρότερα ποσά ενέργειας από αυτά της αερόβιας αναπνοής, γι' αυτό και η αύξηση των ζυμωτικών οργανισμών είναι βραδύτερη.

Οι παραπέρα γνώσεις μας για τις ζυμώσεις προήλθαν από μια τυχαία ανακάλυψη του Buchner το 1897. Ενώ προσπαθούσε να συντηρήσει ένα κυτταρικό ομογενοποίημα που έφτιαξε με κατεργασία ζύμης με άμμο, πρόσθεσε σ' αυτό ζάχαρη και με έκπληξη παρατήρησε σχηματισμό αλκοόλης και  $\text{CO}_2$ . Έτσι ανακαλύφτηκε το πρώτο διαλυτό ενζυμικό παρασκεύασμα που θεωρείται η αρχή της σύγχρονης Βιοχημείας. Η λεπτομερής μελέτη του μηχανισμού της ελεύθερης κυττάρων αλκοολικής ζύμωσης έδειξε ότι αυτή η πολυσύνθετη μεταβολική πορεία είναι αποτέλεσμα σειράς χημικών αντιδράσεων που η κάθε μια καταλύεται από ένα ειδικό ένζυμο. Σήμερα είναι κοινή η διαπίστωση (και σ' αυτό συμφωνούν όλοι οι Βιολόγοι) ότι και η πιο πολύπλοκη φυσιολογική πορεία μπορεί να γίνει κατανοητή με τον ίδιο τρόπο σαν αποτέλεσμα φυσικοχημικών αντιδράσεων. Μ' αυτήν την έννοια αποδείχτηκε, τελικά, σωστή η προαίσθηση των χημικών του 19ου αιώνα που τάχτηκαν ενάντια στη θεωρία ότι υπεύθυνοι για τις ζυμώσεις είναι οι ακέραιοι, ζωντανοί οργανισμοί.

## **Ρόλος μικροοργανισμών στις ασθένειες**

Οι πρώτες αποδείξεις για την πρόκληση ορισμένων ασθενειών από μικροοργανισμούς, τοποθετούνται στο πρώτο ήμισυ του 19ου αιώνα. Το 1813 αποδείχτηκε, ότι ορισμένες ασθένειες των σιτηρών οφείλονταν σε ειδικούς μύκητες και το 1845 ο Berkeley απόδειξε ότι η μεγάλη καταστροφή που έπληξε τις πατάτες της Ιρλανδίας οφείλονταν επίσης σε μύκητα. Το 1836 έγιναν οι πρώτες παρατηρήσεις που συσχέτισαν μύκητες με ασθένειες των ζώων από τον Ιταλό Bassi ο οποίος πρότεινε ότι γνωστές ασθένειες του μεταξοσκώληκα πιθανό να οφείλονται σε συγκεκριμένους μύκητες.

## **Χειρουργική ασηψία**

Με την εφαρμογή της αναισθησίας το 1840 αναπτύχθηκε η χειρουργική και

μελετήθηκαν συστηματικά τα προβλήματα μόλυνσης που ακολουθούσαν τις χειρουργικές επεμβάσεις που πολλές φορές οδηγούσαν τους εγχειρισμένους στο θάνατο. Ένας νεαρός Βρετανός χειρουργός, ο Joseph Lister, εντυπωσιασμένος από τις μελέτες του Pasteur, πίστευε ότι οι μετεγχειρητικές μολύνσεις οφείλονται σε μικροοργανισμούς με τους οποίους έρχονται σ' επαφή οι ιστοί του ασθενούς. Έτσι ο Lister εφάρμοσε τις πρώτες μεθόδους χειρουργικής ασηψίας με θεαματικά αποτελέσματα. Η εργασία αυτή αποτέλεσε έμμεσο αλλά ισχυρό στήριγμα στη θεωρία μικροβιακής αιτιολογίας πολλών ανθρώπινων ασθενειών και στην περίπτωση αυτή η πρακτική εφαρμογή έγινε πριν από τη θεωρία.

### **Βακτηριακή αιτιολογία του άνθρακα**

**Ο άνθρακας** (anthrax) ο οποίος είναι σοβαρή μόλυνση των κατοικίδιων ζώων που μεταδίδεται και στον άνθρωπο, είναι η πρώτη ασθένεια η οποία μελετήθηκε συστηματικά σε σχέση με μικροοργανισμούς. Στα τελευταία στάδια γενικευμένης μόλυνσης άνθρακα βρίσκονται στο αίμα των ζώων, σε μεγάλους αριθμούς, ραβδοειδή βακτήρια. Τα βακτήρια αυτά πρωτοπαρατηρήθηκαν το 1850 και μελετήθηκαν συστηματικά μεταξύ 1863-1868 από τον Davaine. Η χωρίς καμιά αμφιβολία απόδειξη ότι η ασθένεια αυτή προκαλείται από μικρόβια προήλθε από τις μελέτες του Robert Koch, Γερμανού αγροτικού γιατρού. Ο Koch έδειξε ότι μολυσμένο υλικό από κατοικίδια ζώα μολύνει πειραματικά ποντίκια και μετέφερε τη μόλυνση σε 20 ποντίκια με διαδοχικές ενέσεις από υλικό του ενός στο επόμενο· σ' όλες τις περιπτώσεις ο Koch παρατήρησε τα χαρακτηριστικά συμπτώματα της ασθένειας του άνθρακα. Στη συνέχεια ο Koch προχώρησε με καλλιέργεια των μικροβίων από τις σπλήνες μολυσμένων ζώων σε σταγόνες αποστειρωμένου ορού και παρατήρησε την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και τις διάφορες μεταβολές που συμβαίνουν σ' αυτούς: ραβδόμορφοι μικροοργανισμοί μεταβάλλονται σε επιμήκη σωληνάκια, μέσα στα οποία εμφανίζονται πυκνά σκούρα σωματίδια, τα οποία ο Koch έδειξε ότι είναι σπόρια βακτηρίων που δίνουν γένεση σε καινούργια ραβδόμορφα βακτήρια όταν μεταφερθούν σε φρέσκια σταγόνα ορού. Μετά από οκτώ τέτοιες διαδοχικές μεταφορές η τελική καλλιέργεια προκάλεσε τη χαρακτηριστική ασθένεια όταν μεταφέρθηκε σε υγιή ζώα από τα οποία μπορούσε να απομονωθεί ξανά ο μικροοργανισμός. Τα πειράματα αυτά του Koch ικανοποίησαν τα κριτήρια που έθεσε ο Henle από το 1840 και που είναι απαραίτητα για την απόδοση της αιτιολογίας μιας ασθένειας σ' ένα συγκεκριμένο μικροοργανισμό. Τα κριτήρια αυτά εφαρμόστηκαν για πρώτη φορά από τον Koch και είναι γνωστά ως **κανόνες του**

**Koch** που σε γενικευμένη μορφή έχουν ως εξής:

- α) *Ο μικροοργανισμός πρέπει να βρίσκεται σε κάθε περίπτωση της ασθένειας.*
- β) *Ο μικροοργανισμός πρέπει ν' απομονώνεται από τον ξενιστή και να είναι δυνατή η ανάπτυξη του σε καλλιέργεια.*
- γ) *Όταν καθαρή καλλιέργεια του μικροοργανισμού ενύεται σε υγιή ζώα πρέπει να προκαλείται η ειδική ασθένεια.*
- δ) *Και τέλος, από το πειραματικά μολυσμένο ζώο, πρέπει να είναι δυνατή η απομόνωση του μικροοργανισμού.*

Με άλλα πειράματα του, ο Koch, απόδειξε τη βιολογική εξειδίκευση των μολυσματικών παραγόντων αφού έδειξε ότι ένα άλλο βακτήριο που σχηματίζει σπόρια και συναντιέται στο χορτάρι δεν προκαλεί άνθρακα όταν μολύνει ζώα. Στο μεταξύ ο Pasteur και ο συνεργάτης του Joubert, σε άγνοια της δουλειάς του Koch, μελέτησαν επίσης τους μικροοργανισμούς του άνθρακα και, αν και δεν πρόσθεσαν τίποτα το καινούργιο, επιβεβαίωσαν τα ευρήματα του Koch. Η δουλειά αυτή στους βάλκλους του άνθρακα θεωρείται η αρχή της χρυσής εποχής της Ιατρικής Βακτηριολογίας. Μέσα σε 25 χρόνια οι παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την πρόκληση των περισσότερων μολυσματικών ασθενειών είχαν ανακαλυφτεί και περιγραφεί με ακρίβεια. Ακολούθησε η ανάπτυξη μεθόδων τεχνητής ανοσοποίησης και υγιεινής που οπωσδήποτε αποτέλεσαν τη βάση της μεγαλύτερης ιατρικής επανάστασης στην ιστορία του ανθρώπου.

## **Η ανακάλυψη των ιών**

Το 1892 ο Ivanowski έδειξε, ότι ο αιτιολογικός παράγοντας της Μωσαϊκής του καπνού περνά από τα φίλτρα που συγκρατούν τα βακτήρια, δεν είναι ορατός με τα μικροσκόπια της εποχής και δεν αναπτύσσεται στα θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια βακτηρίων. Αν και ο Ivanowski δεν εντυπωσιάστηκε με την ανακάλυψη του, λίγα χρόνια αργότερα, το 1898 ο Beijerinck, αφού επανέλαβε το πείραμα του Ivanowski πείστηκε για την ύπαρξη ενός νέου τύπου μολυσματικού παράγοντα που ονόμασε Contagium Vivum Fluidum (μολυσματικό ζωντανό υγρό) και το οποίο αργότερα ονομάστηκε **ιός**.

Τον ίδιο χρόνο οι Loeffler και Frosh κατέληξαν στο ίδιο συμπέρασμα για τον αιτιολογικό παράγοντα του αφθώδους πυρετού. Επιπρόσθετα, επειδή ο αφθώδης πυρετός περνά από ζώο σε ζώο, ακόμα και αφού αραιωθεί κάθε φορά πάρα πολύ, έγινε φανερό ότι ο αιτιολογικός παράγοντας της ασθένει-

ας αυτής θα πρέπει να πολλαπλασιάζεται με ταχύ ρυθμό και ότι δεν πρόκειται για κάποια βακτηριακή τοξίνη. Ακολούθησε η ανακάλυψη πολλών άλλων ιών των ζώων. Το 1908 οι Ellerman και Bang ανακοίνωσαν την πρόκληση λευχαιμίας στα κοτόπουλα με υγρά που δεν περιείχαν κύτταρα και το 1911 ο Rous ανακάλυψε το ίδιο για τους στερεούς όγκους των πουλερικών. Αναμφίβολα, αυτές ήταν οι πρώτες ανακοινώσεις που σχετίζουν τον καρκίνο με ιούς.

Οι ιοί των βακτηρίων, αν και αργότερα αποδείχτηκαν πολύ χρήσιμοι στη μελέτη της σχέσης ιού-ξενιστή, ανακαλύφθηκαν τελευταίοι. Το 1915 ο Twort δημοσίευσε τα ευρήματά του στο μετασχηματισμό μικροκόκκων. Ενώ προσπαθούσε ο ερευνητής αυτός να καλλιεργήσει σε τριβλία άγαρ τον παράγοντα της ευλογιάς, κατέληξε στην ανάπτυξη ορισμένων μικροκόκκων οι οποίοι συνόδευαν τα δείγματα του. Παρατεταμένη καλλιέργεια των μικροκόκκων είχε σαν αποτέλεσμα τη μεταβολή της μορφολογίας των αποικιών των βακτηρίων και την αδυναμία επανακαλλιέργειάς τους. Αν υλικό από τις μετασχηματισμένες αποικίες αναμιγνύονταν με κανονικές καλλιέργειες του ίδιου βακτηρίου δεν αργούσε η μεταβολή της μορφολογίας των αποικιών και των τελευταίων, ακόμα κι αν το δείγμα περνούσε, πριν την προσθήκη του στις κανονικές καλλιέργειες, από φίλτρα που συγκρατούν τα βακτήρια. Μεταξύ των ερμηγείων που προώθησε ο Twort για την εξήγηση του φαινομένου αυτού ήταν και η πιθανή ύπαρξη ιών των βακτηρίων. Το 1917 ο d' Herelle παρατήρησε παρόμοιο φαινόμενο με βακίλλους δισεντερίτιδας και δεν άργησε να καταλάβει ότι είχε να κάνει με ιούς βακτηρίων που προκαλούν τη λύση των μικροβίων. Επειδή οι ιοί αυτοί δε μπορούν να πολλαπλασιαστούν παρά μόνο σε βάρος ζωντανών βακτηρίων ο d' Herelle τους ονόμασε **βακτηριοφάγους** ή απλά **φάγους**.

## Η ανάπτυξη μεθόδων καθαρής καλλιέργειας

Με τις γνώσεις και τα μέσα που διέθετε τον 19ο αιώνα η Μικροβιολογία, ήταν αρκετά δύσκολο για τους επιστήμονες της εποχής να εξασφαλίσουν ότι μια καλλιέργεια μικροοργανισμών περιέχει ένα μόνο είδος. Επειδή ακριβώς οι καλλιέργειες περιείχαν συνήθως περισσότερα του ενός είδη μικροβίων, πολλοί ερευνητές πίστευαν ότι οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν ποικιλία μορφολογικών τύπων και φυσιολογικών λειτουργιών με αποτέλεσμα τη διατύπωση του δόγματος του **πλειομορφισμού** των μικροοργανισμών σε αντιπαράθεση στο δόγμα του **μονομορφισμού**. Μεγάλες όμως φυσιογνωμίες της εποχής, όπως οι Pasteur, Koch, Cohn και άλλοι, υποστήριξαν με θέρμη και

επιχειρήματα τη σταθερότητα των μικροοργανισμών σε ό,τι αφορά τη μορφή και λειτουργία τους. Γύρω στο 1870 έγινε συνείδηση ότι συστηματική μελέτη των μικροοργανισμών θα είναι δυνατή μόνο όταν επινοηθούν μέθοδοι καθαρών καλλιέργειών. **Καθαρή καλλιέργεια είναι εκείνη που περιέχει μόνο ένα είδος μικροοργανισμών.**

Από τους πρωτεργάτες για την επινόηση μεθόδων λήψης καθαρών καλλιέργειών ήταν ο μυκολόγος Brefeld ο οποίος εφάρμοσε μεθόδους απομόνωσης μονών κυττάρων. Με βάση τις παρατηρήσεις αποικιών μικροβίων σε φυσικά στερεά υποστρώματα (πατάτα, κρέμα αμύλου, ψωμί, λευκωματίνη αυγού) επινοήθηκαν τα πρώτα στερεά θρεπτικά υποστρώματα με προσθήκη σ' αυτά ζελατίνης. Μετά τη στερεοποίηση του θρεπτικού υλικού, μικρή ποσότητα διαλύματος που περιέχει τα μικρόβια επιστρώνεται με βελόνα που προηγούμενα έχει αποστειρωθεί με φλόγα. Ακολουθεί ο σχηματισμός πολλών αποικιών η κάθε μια από τις οποίες μπορεί ν' απομονωθεί. Η πορεία αυτή ονομάστηκε μέθοδος **επίστρωσης**. Αργότερα ο Koch αντί να επιστρώνει τα μικρόβια στην επιφάνεια του στερεού θρεπτικού μέσου τα αναμίγνυε μ' αυτό πριν τη στερεοποίηση του· έτσι τα βακτήρια ακινητοποιούνται μέσα σ' αυτό και αναπτύσσονται ως ανεξάρτητες αποικίες. Αυτή έγινε γνωστή ως μέθοδος **έγχυσης σε πλάκες** (pour plate).

Οι μέθοδοι του Brefeld, ενώ ήταν άριστοι για μύκητες, δεν επαρκούσαν για τα βακτήρια. Γι' αυτόν το λόγο επινοήθηκαν άλλες μέθοδοι με πρώτη τη μέθοδο **«αραιώσεων»**. Ένα μείγμα που περιέχει διάφορα μικρόβια αραιώνεται με αποστειρωμένο θρεπτικό μέσο σε πολλά δοχεία καλλιέργειας με την ελπίδα ότι θ' αναπτυχθούν καλλιέργειες που προέρχονται από ένα μόνο κύτταρο. Η μέθοδος αυτή αποδείχτηκε αβέβαιη και δύσκολη για πολλά είδη μικροβίων γι' αυτό και μελετήθηκαν παραπέρα τα στερεά θρεπτικά υποστρώματα.

Επειδή η ζελατίνη παρουσίασε αριθμό μειονεκτημάτων (διάσπαση από πολλά μικρόβια, θερμοκρασία τήξης μόνο 28° C) σύντομα αντικαταστάθηκε από το άγαρ που μέχρι σήμερα αποτελεί βασικό μέσο για την ανάπτυξη και απομόνωση μικροβίων. Το **άγαρ**, που είναι ένας σύνθετος πολυσακχαρίτης και λαμβάνεται από ερυθροφύκη, παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα: τήκεται στους 100° C, δηλαδή διατηρείται στερεό σ' όλες τις περιοχές θερμοκρασίας που καλλιεργούνται τα μικρόβια. Όταν όμως υγροποιηθεί στερεοποιείται στους 44° C, που επιτρέπει τη χρήση της μεθόδου έγχυσης σε πλάκες. Παράγει ένα είδος σκληρής και διάφανης πηκτής, ιδιότητα που είναι πολύ χρήσιμη για την απομόνωση κλώνων των μικροοργανισμών.

## Η ανάπτυξη των θρεπτικών μέσων καλλιέργειας από τον Koch

Το γεγονός, ότι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται μέσα στους ιστούς του μολυσμένου ξενιστή, οδήγησε τον Koch στη χρήση εκχυλισμάτων κρέατος ως βασικών συστατικών των θρεπτικών μέσων που πρωτοχρησιμοποίησε. Ο θρεπτικός ζωμός κρέατος και θρεπτικό άγαρ που μέχρι σήμερα χρησιμοποιούνται ευρύτατα, είναι αποτέλεσμα των πειραμάτων του Koch.

**Ο θρεπτικός ζωμός κρέατος** (nutrient broth) περιέχει: 0,5% πεπτόνη (προϊόν της ενζυμικής διάσπασης του κρέατος), 0,3% εκχύλισμα κρέατος, 0,8% χλωριούχο νάτριο και συμπληρώνεται, ανάλογα με τις απαιτήσεις συγκεκριμένων μικροοργανισμών, με ζάχαρη, αίμα ή ορό.

## Οι μικροοργανισμοί ως γεωχημικοί παράγοντες

Τα ευρήματα του Pasteur στη σχέση των μικροοργανισμών με τις ζυμώσεις, έδειξαν ότι οι μικροοργανισμοί αποτελούν ειδικούς παράγοντες για χημικές μεταβολές σε μεγάλη κλίμακα και οδήγησαν πολλούς στη σκέψη ότι ο μικροβιακός κόσμος ως σύνολο πιθανόν να είναι υπεύθυνος για μια μεγάλη ποικιλία γεωχημικών μεταβολών.

Η αναγνώριση της μεγάλης σημασίας των μικροοργανισμών στη βιολογική ανακύκλωση της ύλης οφείλεται κυρίως σε δύο ερευνητές, τους Winogradsky και Beijerinck. Σε αντίθεση με τα φυτά και ζώα, οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν εξαιρετικά μεγάλη ποικιλία σε εξειδικευμένες φυσιολογικές λειτουργίες και πολλές απ' αυτές, που έχουν σαν αποτέλεσμα χημικές μεταμορφώσεις της ύλης, δε μπορούν να εκτελεστούν από φυτά ή ζώα (σ' αυτό έγκειται η μεγάλη σημασία των μικροοργανισμών στην ανακύκλωση της ύλης στη γη). Παράδειγμα μεγάλης εξειδίκευσης, σε ό,τι αφορά τη φυσιολογία των μικροβίων είναι τα **αυτότροφα** βακτήρια που ανακαλύφθηκαν από τον Winogradsky. Αυτά μπορούν να αναπτυχθούν σ' εντελώς ανόργανο περιβάλλον. Χρησιμοποιούν ως πηγή ενέργειας για την ανάπτυξη τους την ενέργεια που ελευθερώνεται από την οξειδωση αναγμένων μορφών ανόργανων συστατικών και ως πηγή άνθρακα το CO<sub>2</sub>. Ο ίδιος ο ερευνητής ανακάλυψε ότι υπάρχουν πολλές ομάδες αυτότροφων μικροβίων που κάθε μια χαρακτηρίζεται από τη συγκεκριμένη ανόργανη πηγή ενέργειας που μπορεί να χρησιμοποιεί. (Τα θειούχα βακτήρια οξειδώνουν ανόργανες ενώσεις του θείου, τα αζωτούχα βακτήρια οξειδώνουν ανόργανες ενώσεις του αζώτου).

Μια άλλη σπουδαία ανακάλυψη των Winogradsky και Beijerinck ήταν ο ρόλος των μικροοργανισμών στην **καθήλωση** του ατμοσφαιρικού αζώτου που δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηγή αζώτου για τους πιο πολλούς



οργανισμούς. Οι μικροοργανισμοί αυτοί βοηθούν στη διατήρηση των αποθεμάτων των οργανικών ενώσεων του αζώτου από τις οποίες εξαρτώνται άλλες κατηγορίες οργανισμών.

### **Η τεχνική εμπλουτισμού καλλιέργειας**

Η τεχνική εμπλουτισμού καλλιέργειας επινοήθηκε από τους Winogradsky και Beijerinck για την απομόνωση και μελέτη των διάφορων φυσιολογικών τύπων των μικροοργανισμών και το ρόλο τους στη μετατροπή της ύλης. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στη **φυσική επιλογή** και συνίσταται στη χρησιμοποίηση από τον ερευνητή ενός θρεπτικού μέσου καθορισμένης χημικής σύστασης που μολύνεται με μικρή ποσότητα γης. Ακολουθεί λεπτομερής εξέταση των τύπων μικροβίων που κυριαρχούν στο θρεπτικό υλικό. Η κυριαρχία τους οφείλεται στην ικανότητα της ομάδας αυτής των μικροοργανισμών να αναπτύσσεται ταχύτερα οποιασδήποτε άλλης στο συγκεκριμένο θρεπτικό υλικό το οποίο γι' αυτόν το λόγο χαρακτηρίζεται ως **θρεπτικό υλικό εμπλουτισμού**. Με τη μέθοδο αυτή ο μικροβιολόγος μπορεί ν' απομονώσει μικροοργανισμούς με συγκεκριμένες θρεπτικές απαιτήσεις.

### **Η ανάπτυξη της μικροβιολογίας στον 20ο αιώνα**

Για 50 χρόνια από τον θάνατο του Pasteur η **Μικροβιολογία** ασχολούνταν κύρια με το χαρακτηρισμό των αιτιολογικών παραγόντων των μολυσματικών ασθενειών, τη μελέτη της ανοσίας και το ρόλο της στην πρόληψη και θεραπεία, στην εύρεση χημειοθεραπευτικών φαρμάκων και στην ανάλυση της χημικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών. Τα θέματα αυτά θεωρήθηκαν ανεξάρτητα και στη θεωρία και στην πράξη από τα προβλήματα με τα οποία ασχολείται, την περίοδο αυτή, η **Γενική Βιολογία** που είναι η οργάνωση του κυττάρου και ο ρόλος του στην αναπαραγωγή και ανάπτυξη· οι μηχανισμοί κληρονομικότητας και η εξέλιξη φυτών και ζώων. Μόνο από το 1945 αναγνωρίστηκε η δυνατότητα και ο ρόλος που μπορεί να παίξει η Μικροβιολογία και η μικροβιολογική τεχνολογία, που αναπτύχθηκαν από το 19ο αιώνα, στη μελέτη και τελική κατανόηση των μεγάλων βιολογικών προβλημάτων.

Η ανάπτυξη της καινούργιας επιστήμης της **Βιοχημείας**, σε αντίθεση από τη Γενική Βιολογία, βοηθήθηκε σημαντικά από τη Μικροβιολογία. Η ανακάλυψη της ελεύθερης κυττάρων ζύμωσης, η αναγνώριση των ομοιοτήτων μεταξύ του μηχανισμού γλυκόλυσης στο μυ και της αλκοολικής ζύμωσης από μύκητες, ο παράλληλος προσδιορισμός των βιταμινών και των διάφορων αυξητικών παραγόντων που είναι απαραίτητοι για την ανάπτυξη ζώων και μι-

κροβίων αντίστοιχα, αποτελούν λίγες από τις ανακαλύψεις της Μικροβιολογίας και Βιοχημείας της περιόδου 1920-1935 οι οποίες δείχνουν τις θεμελιώδεις ομοιότητες όλων των ζωντανών συστημάτων σε μεταβολικό επίπεδο.

**Η Γενετική** που η ανάπτυξη της άρχισε με τον 20ο αιώνα δεν είχε άμεση επαφή με τη Μικροβιολογία. Για μεγάλο διάστημα πολλοί αμφέβαλαν αν οι κληρονομικοί μηχανισμοί που διέπουν τα ζώα και τα φυτά, πράγματι ισχύουν και στα μικρόβια. Η πρώτη σημαντική επαφή Γενετικής και Μικροβιολογίας συνέβη μόλις το 1941 όταν οι Beadle και Tatum κατόρθωσαν να απομονώσουν αρκετές βιοχημικές μεταλλάξεις του μύκητα **Neurospora**. Η ανακάλυψη αυτή άνοιξε το δρόμο για την ανάλυση των συνεπειών των μεταλλάξεων σε διάφορες βιοχημικές λειτουργίες και από τότε ο *Neurospora* προστέθηκε στη **Drosophila** και τον **αραβόσιτο** που αποτελούσαν το βιολογικό υλικό επιλογής για μελέτες Γενετικής. Το 1943 οι Delbruck και Luria μελέτησαν μεταλλάξεις σε βακτήρια και αμέσως μετά αποδείχτηκε ότι στα βακτήρια λειτουργούν πολλοί μηχανισμοί μεταφοράς γενετικού υλικού που διαφέρουν ριζικά από το μηχανισμό φυλετικού ανασυνδυασμού των ανώτερων φυτών και ζώων. Το 1944 οι Avery, McLeod και McCarty με τις μελέτες τους στη μεταφορά γενετικού υλικού, αναγνώρισαν ότι το υλικό που μεταφέρεται είναι ελεύθερο **δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ** (πυρηνικό οξύ, DNA). Η χημική λοιπόν υφή της κληρονομικότητας είχε ανακαλυφθεί.

Τα πολλά κοινά σημεία Μικροβιολογίας, Γενετικής και Βιοχημείας που αναγνωρίστηκαν μεταξύ του 1940 και 1945 έθεσαν τέρμα στη μακρόχρονη απομόνωση της Μικροβιολογίας και αποτέλεσαν την κοινή βάση για την επόμενη επανάσταση της Βιολογίας (**Μοριακή Βιολογία**) που αρχίζει περίπου αυτήν την περίοδο και στην οποία οι μικροβιολόγοι συμμετείχαν με θεμελιώδεις ανακαλύψεις.