

Descubrimiento de la Penicilina: Un Hito de la Medicina Cómo el azar puede ayudar al Científico

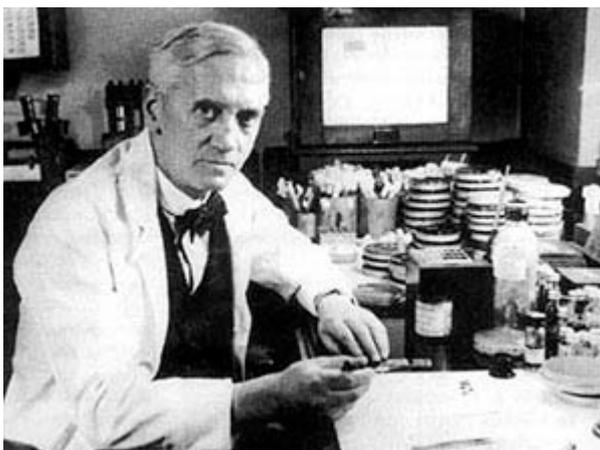
Dr. [Guillermo Acuña L.](#) FACP
[Infectólogo](#) Clínica Las Condes

Es curioso saber que la observación sobre la actividad antibacteriana del *Penicillium* fue hecha en primer lugar por un físico y no por un microbiólogo o médico.

En 1875, el físico inglés John Tyndall (1), trataba de conocer si las bacterias estaban dispersas en el aire en forma regular o agrupadas en pequeñas nubes o congregaciones. Para esto colocaba un gran número de tubos de ensayo con caldo de cultivo en una determinada área. Si las bacterias estaban dispersas en forma regular todos los tubos debieran mostrar desarrollo, en caso contrario solo algunos tendrían desarrollo y los otros se mantendrían limpios.

El resultado de este experimento fue que no todos los tubos presentaban desarrollo, pero lo más interesante es que algunos de ellos mostraban en la superficie, el desarrollo de *Penicillium*, y que *"una batalla se desarrollaba entre las bacterias y el hongo, siendo siempre este último el vencedor, las bacterias muertas formaban un sedimento en los tubos contaminados con el hongo"*.

La pregunta de por qué esta observación publicada en 1876, en *Philosophical Transaction of the Royal Society*, no lo llevó más allá, se explica porque fue hecha siete años antes que Robert Koch probara que las bacterias podían producir enfermedad (1882).



[Sir Alexander Fleming.](#)

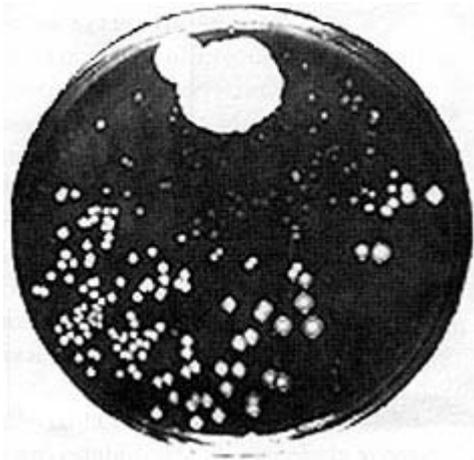
El nacimiento oficial y reconocido de la Penicilina se da en septiembre de 1928, por Alexander Fleming. Este médico nacido en 1881 en Lochfield, Escocia, destacó en su juventud no sólo por su inteligencia sino que por sus cualidades de deportista, las que le permitieron obtener una Beca en la Universidad de Londres en donde él eligió el Hospital Saint Mary, para su práctica médica y donde permaneció hasta 1955, tres meses antes de su muerte.

Su trabajo se desarrolló en el "Departamento de Inoculaciones" de dicho hospital, y su labor profesional la dedicó a las inyecciones de Salvarsan a pacientes de sífilis en Londres.

A diferencia de Tyndall, quien exponía sus tubos con caldo a la atmósfera por varias horas, Fleming, sólo abrió su placa por algunos segundos para sembrar *Staphylococcus aureus*. Esta breve exposición debiera haber sido muy breve para una contaminación por *Penicillium*, salvo que existiera en la atmósfera una gran carga de ellos. Aquí comienzan una serie de elementos que el azar unió. En el piso de abajo del Laboratorio de Fleming, un micólogo estaba cultivando *Penicillium notatum*, por lo que al no existir forma de evitar que las esporas llegaran a la atmósfera, estas livianas partículas inundaban el ambiente del laboratorio de Fleming.

Dado que Fleming salía a vacaciones por dos semanas, en vez de poner las placas en el incubador a 37°C, los dejó a temperatura ambiente. El *Staphylococcus* se desarrolla extraordinariamente bien a 37°C, y si ese hubiese sido el caso, probablemente no se habría desarrollado el *Penicillium*; pero a las bajas temperaturas ambientales de Londres, el desarrollo de la bacteria es lento y por el contrario el hongo se desarrolla sin problemas a temperatura ambiente.

A su regreso, encuentra entonces la ahora famosa placa con el cultivo de *Staphylococcus* contaminada con *Penicillium*, cuyas colonias producían una amplia zona de inhibición del crecimiento de la bacteria.



Placa original de Fleming.

A diferencia de Tyndall, Fleming decidió investigar este fenómeno, y es este uno de los puntos más rescatables de su descubrimiento; en vez de descartar una placa que aparecía contaminada y que podría haberlo ofuscado, fue capaz de ver que ahí había algo notable e interesante que merecía una mayor investigación.

Son muchos los elementos del azar que permitieron el descubrimiento y luego el desarrollo de la Penicilina, pero siempre el azar requiere el reconocimiento de la persona que tiene la suerte de enfrentarse a estos eventos.

Mencionaremos algunos de los eventos que milagrosamente se conjugaron para que este maravilloso descubrimiento tuviera lugar:

- * Si en vez de *Staphylococcus*, Fleming hubiese estado estudiando un bacilo Gram negativo, probablemente el efecto inhibitorio no se había producido.
- * Ya mencionamos la casualidad que significó la contaminación en los escasos segundos en que la placa estuvo expuesta al ambiente.
- * Por otra parte también fue importante que el hongo y la bacteria fueran sembrados casi al unísono, si el *Staphylococcus* hubiese estado creciendo con fuerza algunas horas antes, probablemente el hongo no hubiese tenido posibilidad de desarrollo.
- * También mencionamos el hecho de la incubación a temperatura ambiente en vez de la estufa, lo que permitió el desarrollo del *Penicillium*, y más aún, justo en el momento que Fleming sale de vacaciones, la ola de calor que azotaba a Londres cambió, y bajó lo suficiente para dar la óptima temperatura de desarrollo al hongo.
- * Posteriormente se pudo demostrar que el *Penicillium* que contaminó la placa de Fleming era una variante del *Penicillium notatum*, y solo esa variedad es productora de la Penicilina.

El siguiente paso de Fleming fue probar la actividad inhibitoria del hongo sobre diferentes cepas bacterianas. Esto que actualmente parece tan lógico y fácil, requirió en ese momento del desarrollo de una técnica especial, en la cual haciendo una hendidura al agar, introducía en su interior el cultivo del hongo sembrando la bacteria a estudiar en el resto de la placa. Fleming ya conocía entre las propiedades de la penicilina, su capacidad de difundir, de modo que las cepas sensibles no se desarrollaban en las cercanías de la hendidura con el *Penicillium*. Con este sistema Fleming pudo demostrar actividad sobre variedades de *Staphylococcus*, neumococo, otros estreptococos, meningococo, y gonococo. A su vez mostró falta de actividad sobre bacilos (4).

Es muy curioso, pero Fleming, quien era considerado el más destacado terapeuta de sífilis en Gran Bretaña, no consideró la posibilidad de usar Penicilina en el tratamiento de la lues.

Fleming buscó otras variedades de *Penicillium* productoras de Penicilina, pero no encontró ninguna. Inyectó conejos y ratas, encontrando que no era tóxica. Incluso usó la sustancia para irrigar un ojo, un seno maxilar y una pierna amputada con infección con *Streptococcus*. El resultado fue sorprendente en el ojo y el seno maxilar no así en la herida de la amputación.

Después de esto Fleming deja de investigar la Penicilina, ¿por qué?; probablemente por su incapacidad de concebir la idea de utilizar el producto en forma sistémica. Desgraciadamente al inyectar la droga al conejo o rata, no inoculó simultáneamente una bacteria que hubiese producido la muerte del animal a no ser por el efecto antimicrobiano. Su visión de la Penicilina era más bien de un producto de uso tópico y él lo comparaba al efecto del ácido carbólico.

Otra razón para la falta de continuidad en su investigación, fue la pérdida rápida de actividad del preparado, lo que no pudo solucionar por no contar con la ayuda de un químico experto, como los que posteriormente prepararon la penicilina localizada.

Sin embargo, como todos sabemos, la historia de la Penicilina, afortunadamente, no quedó ahí. Un joven bacteriólogo, habiendo leído la publicación de Fleming, se interesó en su hallazgo y le solicitó cepas de su *Penicillium*, produciendo él mismo Penicilina, la cual utilizó para el tratamiento de varios niños con infecciones oculares, con milagrosos resultados. Algunos de estos niños tenían infección por gonococo, por lo que hubieran perdido la visión si no se los hubiera tratado. El bacteriólogo, muy entusiasmado y excitado le reportó los resultados al Dr. Howard Florey, profesor de Patología de la Universidad de Shieffield. Sin embargo, no fue hasta varios años después que Florey emprendió la tarea de producir penicilina en cantidades. Hasta el momento nadie había planteado su uso sistémico.

En 1935, Gerhard Domagk, demostró que el uso de Prontosil inyectado, curaba las infecciones sistémicas estreptocócicas. La publicación de este hallazgo llevó al Dr. George Dryer, profesor de Patología de Oxford, quien conocía la publicación de Fleming, a reanudar la investigación en Penicilina. El Dr. Dryer era un experto en bacteriófagos, y él pensaba que la Penicilina era un virus, por lo que solicitó a Fleming cepa de su *Penicillium*, para hacer la investigación. El resultado fue que no demostró virus, por lo que dejó de interesarle el *Penicillium*. Afortunadamente no lo eliminó sino que permitió que una de sus ayudantes, la Srta. Campbell Renton, lo mantuviera en cultivos. Al fallecer el Dr. Dryer, su puesto fue ocupado por el Dr. Howard Walter Florey.



Dr. Howard Florey.



Dr. Ernst Boris Chain.

Ernst Boris Chain, un talentoso bioquímico y músico, huyó de Alemania y de los nazis, llegando a la Universidad de Londres, luego se trasladó a Cambridge y cuando estaba decidido a ir a Australia, Florey lo convenció de unirse a su equipo en Oxford. Aquí Chain se encontró con Campbell-Renton, quien en ese momento y fruto nuevamente del azar, estaba transportando un frasco con el *Penicillium*. Chain conocía de las propiedades antibacterianas de su extracto, y se alegró mucho de saber que en el laboratorio tenían cepas de este hongo.

Chain propuso a Florey investigar las características bioquímicas de la Penicilina, de lo cual no se conocía ningún detalle. Florey apoyó entusiastamente la idea. Se toparon con el problema de que en 1939, no habían fondos disponibles para investigación científica. Recurrieron entonces a la fundación Rockefeller, la cual estaba interesada en proyectos bioquímicos, pero no de aplicación práctica inmediata o proyectos médicos propiamente tales.

Con estas indicaciones Chain y Florey se enfrascaron en una investigación que no tenía el propósito de desarrollar un antibiótico útil para la guerra que se estaba librando, sino más bien un estudio bioquímico básico, que demostrara que ciertos microorganismos eran capaces de producir, secretar o elaborar enzimas antibacterianas.

Chain manifestó posteriormente que su encuentro fortuito con Campbell-Renton y el cultivo del hongo, los llevó a investigar Penicilina, en ese momento no tenían idea dónde los llevaría su investigación.

Prontamente Chain descubrió que la Penicilina no era una enzima sino que una molécula simple. Esto produjo un gran desencanto, y probablemente hubiere significado el fin de la investigación sino es por la extraordinaria inestabilidad de dicha molécula, que motivó la curiosidad de Chain. Chain logró estabilizarla al congelarla y producir un polvo que era veinte veces más potente que cualquier sulfa y "estable". Luego vinieron las pruebas de seguridad. Sorprendentemente altas dosis del producto en animales de laboratorio no producían efectos tóxicos apreciables.

Chain comunicó sus hallazgos a Florey. Ambos se encontraban perplejos, parecía demasiado bueno para ser realidad. Florey repitió los experimentos de Chain, corroborando que estaban bien. Florey, notó además que la orina de las ratas que recibían la penicilina se ponía color café claro, lo que pudieron identificar como Penicilina que había pasado por los riñones sin modificaciones, manteniendo su actividad.

El significado de este hallazgo, era que la penicilina se distribuía por los fluidos corporales, y que por lo tanto era planteable su uso sistémico. La excitación en Oxford era increíble. Tan grande que motivó un hecho absolutamente inusual, que Florey iniciara un experimento en un día sábado. Florey hizo lo que Fleming no realizó, inyectó dosis letales de *Streptococcus* a ocho ratas, cuatro de ellas recibieron Penicilina. Las

ratas tratadas sobrevivieron, las no tratadas murieron. Este pequeño experimento en ocho animales, es el cimiento del desarrollo de los antimicrobianos.

A continuación del experimento piloto, el equipo desarrolló experimentos de seguridad y efectividad del producto sobre distintos microorganismos. El resultado de estos experimentos fue publicado en Lancet, 24 de agosto de 1940 (5).

El compromiso con la fundación Rockefeller debió suspenderse. La guerra producía una gran mortalidad de soldados, muchos de ellos por complicaciones de infecciones de heridas, las cuales pudieran ser tratadas con Penicilina, lo que requeriría producción en grandes cantidades. Faltaba, sin embargo, la prueba en humanos. El primer paciente elegido por Florey fue un paciente con un cáncer terminal. Se le administró por vía endovenosa, dado que sabían de la inestabilidad de la Penicilina frente al ácido gástrico. Sin embargo, el paciente presentó fiebre y calofríos. El producto tenía impurezas que pudieran ser tóxicas. En forma muy rápida lograron purificar el producto, mediante un proceso bastante complejo, lo que hacía que la producción del producto se hiciera muy lenta. Lograron mejorar el sistema de cultivos, lo que requería que las botellas de cultivo debían ser rotadas en forma frecuente. No había mano de obra masculina disponible, lo que llevó a que manos femeninas, haciendo turnos de día y noche, rotaran las botellas de cultivo, lo que permitió incrementar la producción.

En el intertanto la experimentación en humanos se había reactivado. Las pruebas de seguridad se realizaron en el mismo equipo de Oxford, sin mayores problemas. Se le solicitó a Florey ayuda para tratar a un policia con septicemia. La respuesta clínica fue extraordinaria, pero se requerían grandes cantidades del producto y rápidamente las reservas se agotaron. Lo que significó que el policia volvió a agravarse y falleció. Esto decidió a Florey a no tratar a nadie hasta no tener una cantidad suficiente del producto.

Esto motivó tratar pacientes pequeños, niños, y con gran éxito, todos los niños se recuperaron a excepción de uno que tenía un trombo infectado en la base del cráneo, lo que llevó a un aneurisma micótico de la carótida, que se rompió y motivó la muerte del paciente. La autopsia demostró que la penicilina había logrado curar la infección. El resultado de estas pruebas fue publicado en agosto de 1945. Chain quiso patentar la penicilina, pero Florey se opuso argumentando que no era ético.

La industria farmacéutica inglesa en general no se interesó en el desarrollo de la producción industrial del producto a excepción de Imperial Chemical Industries, ICI, actualmente AstraZeneca.

La producción por ICI, permitió tratar otros quince pacientes por vía endovenosa y 172 en forma tópica. Midiendo los niveles plasmáticos y resultados clínicos se planteó las dosis terapéuticas útiles.

En 1942, Fleming visitó a Florey y Chain en Oxford, quedando impresionado por los resultados. Solicitó a Florey algo del producto para tratar el mismo algunos pacientes. El resultado de su propia experiencia lo sorprendió a él mismo, motivándolo a solicitar ayuda del gobierno para la producción de Penicilina.

El gobierno inglés, enfrascado en la guerra, decidió no tener una gran planta productora sino que varias pequeñas plantas, lo que evitaría la eventual destrucción de la planta por bombardeos alemanes. Los frascos usados para cultivar el hongo incluían botellas de leche y otros elementos domésticos.

La colaboración entre los científicos ingleses y norteamericanos fue estrecha. De hecho el primer paciente tratado con Penicilina EV no fue inglés, sino que se realizó en el Hospital Columbia Presbyterian de Nueva York. El grupo del Dr. Martín Henry Dawson, usando cepas de *Penicillium notatum* obtenidas en Oxford, produjo Penicilina, y cinco semanas después de que el primer paper fuera publicado en 1940, iniciaron el tratamiento de pacientes.

Florey viajó a USA con el propósito de estimular la producción industrial de penicilina. Los americanos propusieron la fermentación en profundidad para mejorar la producción de Penicilina. La gran contribución americana fue la del desarrollo de un sistema de

fermentación y crecimiento del hongo que hicieron posible la producción a nivel industrial de la Penicilina. Laboratorios americanos e ingleses, compartieron los derechos de patente de la Penicilina y su forma de producción. Fleming, Florey y Chain obtuvieron el Nobel de Medicina en 1945, por su gran descubrimiento. En 1955 Fleming recibió uno de los más altos honores británicos. Fue enterrado en la Catedral de Saint Paul en Londres.

Bibliografía

1. *J Tindall. The optical department of the atmosphere in relation to the phenomena of putrefaction and infection. Philosophical Transactions of the Royal Society 1876; 166: 27.*
2. *D Wilson. In search of Penicillin: New York, 1976, Alfred A. Knopf, editor.*
3. *R Hare. The Birth of Penicillin and the Disarming of Microbes. 1970: George Alden and Unwin, editors, capítulos 3 y 4.*
4. *A Fleming. "On the Antibacterial Action of Cultures of Penicillium, with Special Reference to their use in Silation of H influenzae". British Journal of Experimental Pathology 1929; 10: 226.*
5. *E Chain et al. Penicillin as a Chemotherapeutic agent. Lancet 1940; 2: 226.*
6. *EP Abraham et al. Further observations on Penicillin. Lancet 1941; 2:177.*
7. *M Friedman and GW Friedland. Alexander Fleming and antibiotics. Medicine's 10 Greatest Discoveries. Yale University Press, 1998. Capítulo 9.*