

Historia

El regreso al futuro 10 años después

J. Prieto

*Departamento de Microbiología I, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid,
Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid*

Decía Bustinza que no sabía si sorprenderse más por el descubrimiento de la milagrosa penicilina o por el éxito que en muy pocos años tuvo en todo el mundo. Teniendo en cuenta que empezó a utilizarse en la década de 1940, cabe preguntarse qué ocurrió antes. Desde su descripción en 1929, prácticamente no se había vuelto a hablar de ella. El mismo Alexander Fleming apenas divulgaba lo que sabía sobre la penicilina.

El hallazgo de Fleming tuvo una gran repercusión, pero sólo en su ámbito, durante un par de años. ¿Cómo es posible que su descubrimiento quedara relegado al olvido tan rápidamente?

Como suele ocurrir en el campo de la ciencia, no existe un único argumento que explique una decisión, sino que con frecuencia se debe a la conjunción de varios hechos. Revisémoslos:

- a) Es bien conocida la recia personalidad de A.E. Wright y la lealtad que Fleming le profesaba. Wright fue un acérrimo defensor de las vacunas en el campo de las infecciones y un escéptico de los intentos terapéuticos con antisépticos y otras iniciativas similares. No prestó todo su apoyo a Fleming, lo que debió influir en la falta de continuidad de éste en la investigación de la penicilina.
- b) Seguramente Fleming cumplió el objetivo fundamental de su investigación, consistente en lograr un “antisépti-

co” para eliminar los contaminantes de sus vacunas, especialmente la de *Haemophilus*. La penicilina no era tóxica (con los parámetros de la época), no actuaba frente a *Haemophilus* y eliminaba los contaminantes más frecuentes (cocos grampositivos). Puede llamar la atención que Fleming hablara de antisépticos para referirse a la penicilina, pero es necesario recordar que la diferencia bien al señalar su acción mucho más lenta, más específica y más intensa que la de los clásicos antisépticos. Además, el término “antibiótico” lo propuso Selman Waksman años más tarde.

Otra prueba de la incertidumbre de la naturaleza de la penicilina la tenemos en la nomenclatura. Pensando que era parecida a la lisozima, Wright propone el nombre “penicilim”, pero Fleming, quizá por llevarle la contraria, dice que se parece más a la tripsina y por tanto es más procedente llamarla “penicilina”, lo que habla de cierto confusionismo sobre la naturaleza enzimática, antiséptica, de la penicilina. Alguna verdad debía haber, porque 15 o 20 años después insiste en sus conferencias y escritos en que él nombró, siguiendo el criterio de la digitalina de la digital, la aloína del áloe. También arrastra Wright una cierta culpa de las exageraciones de la prensa sobre el descubrimiento del fenómeno de la antibiosis, que le lleva a citar con frecuencia a Fleming, que declaró la falta de influencia de los antiguos trabajos en el nacimiento de la penicilina.

- c) Como todo gran descubrimiento, el de la penicilina no estuvo exento de problemas, especialmente importantes para su posterior desarrollo, que debieron influir seriamente en el ánimo de Fleming y su equipo. Son los referentes a la equivocación referente al productor. No se trataba de *Penicilium rubrum* sino de *P. notatum*. Con frecuencia, y dudosa elegancia, Fleming responsabilizaba al micólogo del hospital, cuando lo lógico hubiera sido hacer lo que posteriormente hizo el bioquímico H. Raistrick, que verificó la identificación con otros equipos y encontró el error. Cuando Raistrick le comentó, en 1932, que la identificación correcta del hongo productor era *P. notatum*, descrito por el sueco Wastling en una brizna de hierba o hisopo, de donde le viene el nombre. Fleming, gran conocedor de la Biblia, impertérrito le contestó que lo importante es la coincidencia premonitória con el salmo 51: “Purifícame con el hisopo y quedará limpio”.

Es cierto que en pocos años el equipo de Fleming trabajó duro, pero partía de un supuesto poco correcto para producir penicilina al considerar muy exigente al hongo en su crecimiento cuando se podía simplificar muchísimo su cultivo.

Otro error importante, por la repercusión que tuvo en el abandono, fue considerar la insolubilidad en éter y acetona, así como la inactivación en presencia de suero. Pero probablemente el mayor fallo de planificación consistió en el diseño del ensayo clínico. Era otra época, pero hoy podemos decir que la selección que hizo de los voluntarios y enfermos difícilmente podía ofrecer resultados esperanzadores.

- d) A pesar de lo comentado, lo que más desanimó a Fleming fue la inestabilidad de la penicilina. Su equipo de químicos no fue capaz de extraerla, concentrarla y purificarla para poderla usar adecuadamente como arma terapéutica, a pesar del fichaje de Raistrick, bioquímico que trabajaba en pigmentos de microorganismos, donde estuvo la clave del futuro desarrollo de la penicilina, como veremos más tarde.

Para garantizar su éxito, una vez simplificado el medio de cultivo, Raistrick se rodeó de un competente equipo en el cual no faltaba un bacteriólogo. Además, el aislamiento de la penicilina debía ser sencillo. Como se había hecho con pigmentos y sustancias antibióticas, añadió éter al caldo de cultivo y, tras agitar, separó el éter donde esperaba encontrar la sustancia activa, pero fue un fracaso: no había nada. Ahora bien, pensaron que algo se había avanzado. La penicilina no era soluble en éter, pero se mantenía en el caldo. ¿Era entonces

soluble en agua? Dedicaron muchos meses a intentar separar la penicilina de su probable solvente el agua. Cambiando numerosas condiciones de pH, temperatura, concentración de éter, etc., llegó un momento en que el bacteriólogo descubrió que en un medio muy alcalino la penicilina no estaba en el caldo, luego se había “transferido” al éter. Raistrick hizo pasar una corriente de aire sobre el recipiente del éter para evaporarlo, y cuando esperaba encontrar la penicilina en el fondo del recipiente observó atónito que no había nada. ¡Había desaparecido del caldo y del éter! Algunos hasta llegaron a pensar que la penicilina no existía.

Pero no por ello se desanimó. Siguió trabajando y en otro experimento añadió agua al recipiente del éter, y evaporó éste exponiéndolo a una corriente de aire. El bacteriólogo estudió la actividad del agua que quedaba y se llevó otra sorpresa. ¡Allí estaba la penicilina! Y en una concentración superior a la de cualquier otro estudio anterior.

A partir de ahí empezaba otra aventura, pues había que separar la penicilina del agua que la tenía “secuestrada”. Pero no hubo lugar. El micólogo murió en un accidente, el bacteriólogo encontró otro puesto de trabajo, Fleming perdió el interés por el tema y Raistrick se “hartó” de su trabajo con la penicilina. El equipo se disolvió.

Poco después surgió todavía otra oportunidad. Desmantelando el laboratorio, una asistente preguntó qué se hacía con un pequeño recipiente abandonado que había contenido éter y caldo, en cuyo fondo había depositado un fino polvo pardo amarillento. ¿Sería la penicilina? Tras pensar esto, Raistrick, que no contaba ya con el bacteriólogo para comprobarlo, ordenó eliminarlo. Fleming y Raistrick habían renunciado a la penicilina. En palabras de Fleming: “Yo había fracasado en mi intento de conseguir un avance por falta de ayuda química adecuada. Raistrick y sus socios habían carecido de cooperación bacteriológica y quedó sin resolver el problema de la concentración eficaz de la penicilina”.

- e) Las dificultades económicas también fueron muy importantes. El trabajo en un hospital de beneficencia, en un departamento de inoculaciones que basaba sus ingresos en la administración de fármacos y vacunas, no permitía disponer de fondos para distraerles en otras actividades, máxime cuando la penicilina requería grandes medios, equipos y por tanto recursos para superar las dificultades del punto anterior.
- f) En esta época ya llegan noticias de Alemania sobre los avances del tratamiento de la sífilis con el 606; de he-

cho, Fleming era reconocido como un experto en la terapia de la sífilis y de los derivados de las anilinas. Estas sustancias quimioterápicas tenían el inconveniente de su toxicidad, sobre lo que se investigaba intensamente, pero su estabilidad química les otorgaba ventajas notables sobre la penicilina.

Todos estos hechos por sí solos no justificarían el olvido de la penicilina durante una larga década, pero es evidente que, en conjunto, pueden ayudar a comprender el desánimo de Fleming. En cualquier caso, esto no es totalmente correcto. Por un lado, la inestabilidad de la penicilina es un argumento que ha llevado a descartar numerosos fármacos, y además el olvido no fue total, pues como veremos a continuación hubo varios intentos con la penicilina y con otros fármacos en el tratamiento de las infecciones.

¿Fue total el olvido de la penicilina? No exactamente, pues los trabajos de Raistrick se publicaron en 1932 y dos años más tarde el laboratorio del Hospital St. Mary's contrató a otro bioquímico, Levis Holt, para que ayudara a Wright y Fleming en sus investigaciones, que por entonces se centraban en el escorbuto y en la elaboración de una vacuna antiestafilocócica, respectivamente.

Estos detalles abundan en el interés de Fleming por las vacunas y en el abandono de la penicilina como terapia.

Holt, intrigado por lo que conoció de los equipos anteriores, también intentó obtener la penicilina utilizando una solución de acetato y cambiando el pH del agua, de ácido a alcalino. Siendo ésta pura y evaporando a baja temperatura, debía obtener el extracto seco, purificado y estable de la penicilina. Le falló la etapa del acetato, no puso demasiado empeño, no contó con apoyos económicos o tuvo la desaprobación de Fleming al distraerse en otras tareas distintas de las encomendadas. El caso es que tampoco este experimento tuvo éxito.

Aunque en varias ocasiones hemos aludido al escepticismo de Fleming sobre su penicilina, paradójicamente en varias ocasiones la defiende. En 1935 responde a McLeod (el del neumococo), que defendía el prontossil: "Oiga, yo poseo algo mejor que el prontossil, pero nadie quiere escucharme, y no he podido encontrar ni un médico que se interese por él, ni un químico que me lo purifique".

En el año 1936 participó en el II Congreso Internacional de Microbiología en Londres, y en su ponencia describió su descubrimiento y aportaciones acerca de la sustancia activa del *Penicillium* y no perdió ocasión de seguir hablando de su penicilina en el viaje que realizó a Estados Unidos en 1939.

La década de 1930 es indudablemente la del descubrimiento de las sulfamidas. En 1932, Donay administra

prontosil por vía parenteral a ratones infectados con estreptococos, logrando una rápida curación. En 1935 comunica a la Royal Society los resultados con el prontossil y recibe el premio Nobel de Medicina en 1939. A los encantos del prontossil no se resiste ni Fleming, que salvo en algunos casos se manifiesta como un entusiasta usuario de él. En 1936, un bacteriólogo del equipo, Hare, se cortó en la mano con un cristal contaminado con *Streptococcus*. Padeció una infección grave que fue atajada rápidamente con el prontossil que Fleming había obtenido de sus amigos alemanes. Este éxito entusiasmó tanto a Fleming que empezó a trabajar siguiendo las etapas de valoración, estudio de espectro, etc., que había seguido con la penicilina.

Aparte del uso en algunos enfermos graves, publicó en 1939 la eficacia del prontossil junto a una vacuna en ratones infectados con neumococos, experiencia que presentó en Nueva York en el III Congreso de Bacteriología. Vemos así que mantiene su lealtad a la idea sobre las vacunas de Wright, compatibilizándola con su creencia en la quimioterapia.

Pero aparte de la importancia de las sulfamidas, para centrarnos en los antibióticos nos podemos preguntar si hubo alguna aportación más hasta la masiva aplicación de la penicilina. Se pueden diferenciar tres líneas distintas que prueban que la década de 1930 no es un periodo mudo sino todo lo contrario. Es una especie de respuesta de los aliados al dominio que ejercen los alemanes con sus sulfamidas, y no es una metáfora, porque la tensión que desemboca en la II Guerra Mundial no fue sólo militar sino también política, industrial, científica, comercial, de protestas, etc.

Las tres líneas citadas corresponderían a: 1) investigadores del entorno de Fleming que siguen trabajando en la búsqueda de sustancias antimicrobianas; 2) trabajos que dan origen al grupo de Oxford; y 3) investigadores americanos del grupo de Waksman que culminan con el descubrimiento de la estreptomina.

En el primer caso, Raistrick y otros describieron una sustancia de naturaleza antibiótica obtenida de un hongo identificado por el micólogo americano Thorn como *Penicillium citrinum*, y que denominará citrinina, sobre la que se publicaron varios trabajos desde 1931. Pero con anterioridad, en 1913, Alsberg y Black habían descrito una sustancia conocida como "ácido penicilínico", obtenida según ellos del *Penicillium puberalum*, de espectro muy amplio, activo frente a grampositivos y gramnegativos. Esta línea fue intensamente seguida por Raistrick, Oxford y Smith, y recogida en una revisión posterior por E.B. Chain y H.W. Florey, lo cual fue interpretado por Fleming como un intento de restarle méritos, y explica las aclaraciones de Florey y el posterior uso del descubridor de la penicilina, como ya se ha citado.

Cronología de los hallazgos más importantes sobre antibióticos (exceptuando las sulfamidas) en la época de la penicilina (datos recogidos de Herrell).

Año	Antibiótico	Origen	Autores
1913	Ácido penicílico	<i>P. puberulum</i>	Alsberg y Black
1924	Piocianina	<i>P. aeruginosa</i>	Wrede y Strack
1924	Actinomicetina	<i>Actinomyces</i>	Gratua y Doth
1929	Penicilina	<i>P. notatum</i>	Fleming
1931	Citrinina	<i>P. citrinum</i>	Raistrick
1936	Gliotoxina	<i>T. lignorum</i>	Weindling y Emerson
1938	Fumigatina	<i>A. fumigatus</i>	Auslow y Raistrick
1939	Tirotricina	<i>B. brevis</i>	Dubos
1940	Actinomicina	<i>A. antibioticus</i>	Waksman y Woodruff
1942	Claviformina	<i>P. claviforme</i>	Chain y Florey
1942	Fumigacina	<i>A. fumigatus</i>	Waksman y cols.
1942	Clavacina	<i>A. clavatus</i>	Waksman y cols.
1942	Estreptotricina	<i>A. lavendulae</i>	Waksman y Woodruff
1943	Patulina	<i>P. patulum</i>	Raistrick y cols.
1944	Estreptomycinina	<i>A. griseus</i>	Waksman y cols.

Es preciso señalar que en 1940-1941 el equipo de Oxford se anota el éxito de la penicilina.

El nombre de Raistrick sigue ligado a esta aventura, ya que en 1938, con Auslow, obtienen de *Aspergillus fumigatus* una sustancia antibiótica activa frente a grampositivos que llamaron fumigatina. Pero los hallazgos que más repercusión tuvieron en este contexto fueron la gliotoxina, descrita en 1936 por Weindling y Emerson, producida por *Trichoderma lignorum* y de eficacia demostrada *in vitro* frente a grampositivos y gramnegativos, y en segundo lugar el trabajo publicado en *Science* (agosto de 1940) por White, en el cual describía las propiedades bactericidas de los filtrados de cultivos de *Aspergillus flavus*, que dio origen a una verdadera fiebre de investigación en torno a esta especie.

La segunda línea seguida por el equipo de Oxford la comentaremos en otro artículo, y sobre la tercera línea, con Waksman podemos llegar a la misma conclusión que con Fleming: no existe la casualidad sino la preparación, el estudio, y los antecedentes pueden explicar el hallazgo de la estreptomycinina.

En 1939 Dubos publicó su descubrimiento sobre la gramcidina producida por una bacteria, *Bacillus brevis*, que luego se denominaría tirotricina al demostrar al año siguiente que estaba formada por dos sustancias diferentes. Los antecedentes con bacterias productoras de antibióticos se remontaban al siglo XIX y siempre con *Pseudomonas*, pero al año siguiente (1940) Waksman y su equipo abren un inmenso panorama con los actinomicetes.

Waksman y Woodruff comunican el aislamiento de la actinomicina A y B de *Actinomyces antibioticus*, después la estreptotricina de *A. lavendulae* y finalmente, en 1944, el equipo de Waksman describe la estreptomycinina de *A. griseus*. Pero tampoco habían descartado otras líneas, como prueba la descripción de la fumigacina, similar a la fumigatina, y la clavacina de *A. clavatus*.

Como hemos visto, la idea de que los progresos terapéuticos en la década de 1930 se limitaron al descubrimiento del prontosil es errónea, y también se equivocan los que creen que los descubrimientos de Florey y de Waksman al principio de los años 1940 fueron fruto de la casualidad. En el breve paseo que hemos hecho por estos años hemos visto que, en el terreno científico, como en el político y el económico, Occidente está en ebullición y las aportaciones terapéuticas son la consecuencia del interés, del trabajo y también del fracaso de muchos científicos, la mayoría de los cuales quedaron en el anonimato.

BIBLIOGRAFÍA

- Barberán, J., García Rodríguez, J.A., González, J., Prieto, J. Historia de los antimicrobianos. SCM, Madrid 2003.
- Camacho, J. La prodigiosa penicilina. A. Fleming. Nivole, Madrid 2001.
- Fleming, A. (Coord.) Penicilina. Su aplicación práctica. Traducido al español en 1946. Ed. "Saturnino Calleja".
- Herrell, W.E. Clínica de la penicilina y otros agentes antibióticos. Espasa Calpe, 1947.
- Lutz, E.H. Penicilina. Destino, Barcelona 1956.