

Sobre Ernest Duchesne y el descubrimiento de la penicilina

About Ernest Duchesne and the discovery of penicillin

Carlos G. Osorio Abarzúa¹

¹Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Declaración conflictos de interés: no existen conflictos de este tipo.

Fuente de financiamiento: no corresponde.

Recibido: 17 de julio de 2024

Resumen

El descubrimiento de la penicilina es un evento científico ampliamente conocido y de gran repercusión en el mundo moderno ¿Quién no ha escuchado alguna vez sobre el descubrimiento de Alexander Fleming? Su célebre observación de la inhibición de colonias bacterianas en una placa de Petri por un hongo del género *Penicillium*, que cayó accidentalmente sobre ella, ha pasado a ser un paradigma de genialidad y descubrimiento científico. Se plantea en esta nota histórica una visión alternativa sobre este descubrimiento. Para ello, se utiliza como base el trabajo realizado con anterioridad por el joven médico francés Ernest Duchesne, quien publicó su tesis titulada “Contribución al estudio de la competición vital en microorganismos: antagonismo entre mohos y microbes”, en 1897.

Palabras clave: *Penicillium*; penicilina; Alexander Fleming; Duchesne.

Abstract

The discovery of penicillin is a widely known scientific event with great impact in the modern world. Who has not heard about Alexander Fleming's discovery? His brilliant observation of the inhibition of bacterial colonies in a Petri dish by a fungus of the genus *Penicillium* that accidentally fell on it has become a paradigm of genius and scientific discovery. An alternative view of this discovery is proposed in this historical note. For this purpose, the work carried out by the young French doctor Ernest Duchesne is used as a basis. He published his thesis entitled “Contribution to the study of vital competition in microorganisms: antagonism between molds and microbes”, in 1897.

Keywords: *Penicillium*; penicillin; Alexander Fleming; Duchesne.

Introducción

¿Quién no conoce la historia del descubrimiento de la penicilina y su héroe mítico, el médico e investigador escocés Alexander Fleming (1881-1955)? En su famoso laboratorio del hospital de St. Mary's en Westminster (comuna de Londres) el 3 septiembre de 1928 al regresar de vacaciones, observó que en algunas placas de cultivo sembradas con *Staphylococcus aureus*, al finalizar la temporada anterior, había crecido casualmente un hongo filamentoso del género *Penicillium* y que alrededor de él no había colonias bacterianas pero sí en otras partes de la placa lejanas a la colonia del hongo (Figura 1). La visión tradicional plantea que Fleming

dedujo, de esta simple observación, que este hongo tenía la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano, lo cual es indudablemente cierto. Se enseña además, de acuerdo con esta visión, que este fue un gran descubrimiento científico y que ejemplifica la gran capacidad de observación y análisis de Fleming. Por ejemplo, un texto sobre el tema habla de “*la fenomenal conclusión de Fleming*”. Otro habla de “*La gran capacidad de observación y el interés por la investigación, ...*”¹. ¿Es esto real? Si la observación de Fleming fuese producto de su destacada capacidad científica, se esperaría que otros investigadores que, al igual que él, realizaron previamente observaciones similares fuesen también considerados genios científicos. La hipótesis alternativa sería considerar su observación como destacada, pero normal o

Correspondencia a:

Carlos G. Osorio Abarzúa
carlososorio@uchile.cl

común para un investigador promedio. Ya en 1871 John Burdon Sanderson, un médico inglés, observó que las bacterias no lograban desarrollarse en medios en los que había un crecimiento visible del hongo *Penicillium*. A principios de 1872, el célebre médico y cirujano Joseph Lister comprobó también la inhibición del crecimiento bacteriano por parte de hongos del género *Penicillium*. Además, sorprendentemente Lister trató con éxito en 1884 un caso de absceso glúteo aplicando líquido de cultivo de *Penicillium glaucum*. También el destacado biólogo darwinista inglés Tomás Huxley y el físico inglés John Tyndall hicieron observaciones semejantes². En este contexto, es interesante analizar la tesis del médico francés Ernest Duchesne, presentada en 1897 y titulada: “*Contribution à l’étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes: antagonisme entre les moisissures et les microbes*” (Contribución al estudio de la competición vital en microorganismos: antagonismo entre mohos y microbios)³. La lectura de esta tesis impresiona por su exactitud, claridad y buenos fundamentos. Este trabajo consta de 60 páginas y está dividida en cuatro secciones o capítulos. Claramente, esta investigación no fue producto de la serendipia o la casualidad. ¿Fue esta tesis producida por un estudiante de medicina común o fue la obra de un genio no reconocido y olvidado por la ciencia?

Ernest Duchesne (1874-1912)

Ernest Duchesne nació en París el 30 junio de 1874. Ingresó a la Ecole du Service de Santé Militaire (Escuela Médica Militar de Lyon), asociada a la Facultad de Medicina y Farmacia de la Universidad de Lyon en 1894 (Figura 2). Se graduó a los 23 años en 1897 con la tesis anteriormente citada. Tan sólo dos años después, en 1899, fue destinado como médico, al 2.º Regimiento de Húsares en Senlis (región de Picardía). Contrajo una enfermedad pulmonar, presumiblemente tuberculosis, lo que lo llevó a retirarse definitivamente en 1907. Falleció en 1912 a la edad de 38 años en la localidad de Amélie-les-Bains, en el departamento de los Pirineos Orientales⁴.

Tesis médica de 1897

Duchesne realizó su tesis médica bajo la tutoría del profesor de micología y bacteriología de la Facultad de Medicina de Lyon, Guillermo Roux (1853-1914) (al parecer, sin parentesco con el famoso y destacado microbiólogo francés Emile Roux) (Figura 3). Roux se especializó en el tratamiento de aguas y estaba muy interesado en el fenómeno de la competencia entre microorganismos, particularmente en la competencia entre hongos y bacterias⁵. En 1892 fue nombrado director de la oficina



Figura 1. Fotografía del hongo ascomiceto *Penicillium chrysogenum*. Fuente: CBS Fungal Diversity Centre.

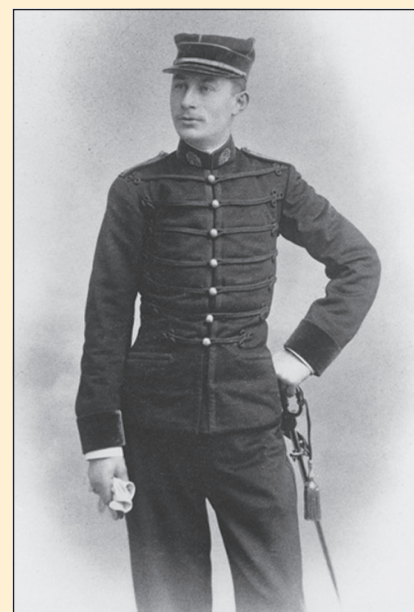


Figura 2. Fotografía de Ernest Duchesne (1874-1912). Fuente: Wikipedia.

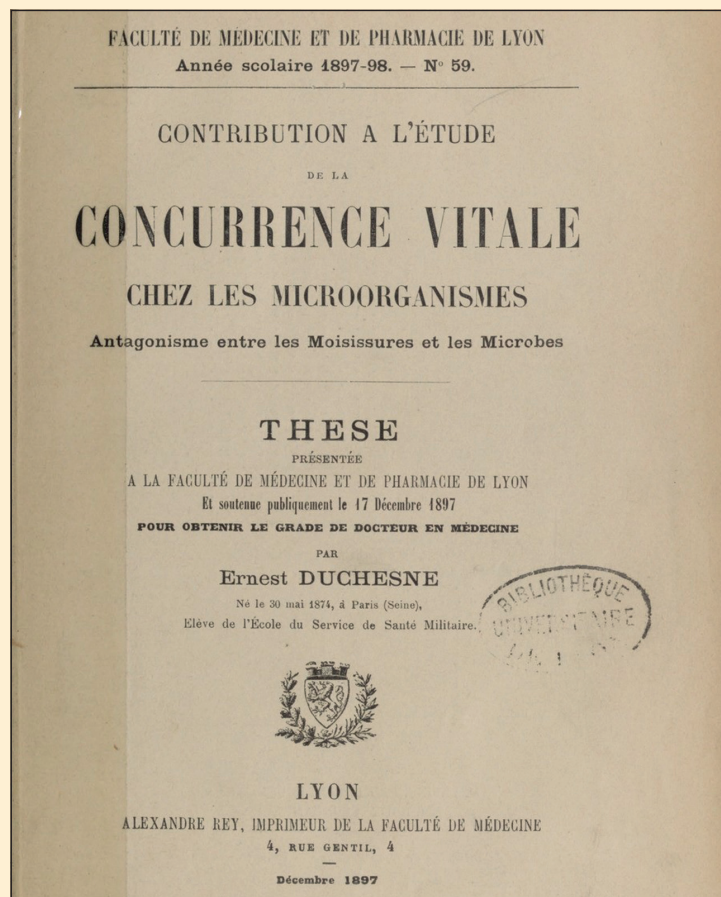


Figura 3. Página inicial de la tesis de Duchesne. Fuente: gallica.bnf.fr.

municipal de higiene de Lyon. Sus datos y estudios en el tema lo llevaron a plantear la hipótesis de que el agua de la llave tenía una mayor capacidad que el agua esterilizada para eliminar hongos, pues argumentaba que el agua de la llave contenía bacterias ambientales que destruían los hongos. Duchesne en la introducción de su tesis presenta el problema de la siguiente manera: “La cuestión de la competencia vital hasta ahora sólo se ha estudiado para seres superiores, animales y plantas. No carece de interés comprobar si, entre los infinitamente pequeños, esta lucha por la existencia no existe también, y pensamos que tal vez podríamos extraer ideas útiles para la patología y la terapia.” Y continúa: “Hoy conocemos bien el papel de los microbios en la génesis de las enfermedades: sabemos que no sólo causan estas enfermedades, sino que también pueden ser sus remedios, ya sea a través de sus cultivos atenuados o de sus productos de secreción. No es nueva la idea de oponer determinadas especies patógenas a la actividad vital de otras especies (bacterias contra bacterias), pero hasta ahora los resultados no han sido satisfactorios. Por eso nos preguntamos si no deberíamos mirar en otra dirección y si, a la actividad vital de los microbios (bacterias), no deberíamos oponerla a la de una especie muy cercana (es decir, entre bacterias), sino a una que no presenta las mismas propiedades patógenas: los mohos”. Al parecer, esta fue la primera vez que se planteó una competencia vital entre bacterias y hongos.

En la primera sección de su tesis discutió en profundidad el concepto de competencia entre microorganismos. Introdujo el tema con el concepto de selección natural de Darwin y prosiguió con las ideas de Pasteur & Joubert sobre competencia vital entre las bacterias del carbunco y la septicemia. Pasteur y Joubert en su artículo “*Charbon et septicémie*” (1877) dicen lo siguiente⁶: “Sorprendentemente... uno puede introducir el bacilo del ántrax en abundancia en un animal sin que el animal contraiga ántrax, siempre y cuando el líquido que mantiene en suspensión el bacilo también contenga bacterias comunes. Estos hechos suscitan tentativamente las mayores esperanzas desde una perspectiva terapéutica”. Pasteur atribuía el efecto inhibitorio de las bacterias comunes (no especificadas) sobre la bacteria del ántrax a una competencia por el oxígeno. Unos años más tarde, Charrin y Guignard en su trabajo titulado “*Action du bacille pyocyanique sur la bactérie charbonneuse*” (1889)⁴, demostraron que un cultivo filtrado de *Pseudomonas aeruginosa* tenía también un efecto inhibitorio sobre el bacilo del ántrax, anticipando el descubrimiento de la piocianina y el concepto de antibiótico.

En la segunda sección de su tesis, Duchesne contrastó la hipótesis de su tutor Roux respecto de la inhibición de los hongos por bacterias del agua de la llave. Para estos ensayos utilizó un hongo que él denominó en su tesis *P. glaucum*. El hongo fue cultivado a diferentes tiempos en

agua de la llave y estéril y luego fue sembrado en placas de agar. Se pudo observar que el agua de la llave inhibía casi inmediatamente el crecimiento del hongo, en cambio el agua esterilizada tenía un efecto inhibitorio mucho más lento. Este fenómeno se atribuyó a la acción de bacterias ambientales presentes en el agua de llave. Luego realizó experimentos similares con cultivos líquidos y también pudo demostrar que *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi* y *Pseudomonas* sp. tenían un efecto inhibitorio sobre *P. glaucum*. Estos resultados concordaban perfectamente con la hipótesis de su tutor Roux.

En ese momento Duchesne se preguntó lo siguiente: “...en todos estos experimentos notamos el brutal resultado de la competencia; la desaparición de los hongos; pero nada demuestra que antes de ser eliminados los hongos no haya disminuido la virulencia de los microbios (bacterias) y posiblemente sus propiedades patológicas”. Hipótesis luminosa y a la vez premonitoria. ¿Fue su propia idea o se la propuso su tutor Roux? Nunca se sabrá. Pero, ¿de qué manera decidió Duchesne contrastar esta última hipótesis? Esta sección corresponde a la tercera parte de su tesis. Comenzó realizando experimentos *in vitro* (tubos de ensayo) que demostraron claramente que *P. glaucum* destruía a *E. coli* y *S. Typhi*. Luego inoculó vía intraperitoneal dos cobayos con *E. coli* y *S. Typhi* (de manera similar a los experimentos realizados por Pasteur & Joubert en 1877). Su relato dice lo siguiente: “El 1° de diciembre inoculamos un cobayo de 800 gramos que recibió en el peritoneo dos centímetros cúbicos de una mezcla del mismo cultivo de coli y de moho (*P. glaucum*) en caldo esterilizado”. Ambos cobayos murieron luego de 24 horas. Luego inoculó otros dos cobayos con un cultivo mixto de *E. coli/P. glaucum* y *S. Typhi/P. glaucum*. De acuerdo con lo esperado, estos dos últimos cobayos sobrevivieron el ensayo.

Finalmente, Duchesne discutió en la cuarta y última parte de su tesis, los posibles mecanismos que subyacen el fenómeno de antagonismo entre *P. glaucum* y ambas bacterias. Atribuyó la competencia al carácter nutritivo de los medios de cultivo y a la gran capacidad reproductiva del hongo en ellos. No logró imaginar que el mecanismo pudiese basarse en una sustancia tóxica excretada por el hongo al medio de cultivo, aunque conocía los experimentos de Charrin & Guignard de 1889 (citados en su trabajo). Terminó su tesis con un párrafo esperanzador: “Esperamos que la prosecución de estos estudios sobre la vital competencia por la vida entre hongos y microbios que aquí apenas hemos comenzado, y para los cuales no pretendemos haber hecho más que una pequeña contribución, pueda resultar en el descubrimiento de otros hechos útiles y aplicables a la higiene y terapia profiláctica”.

¿Descubrió Duchesne la penicilina antes que Fleming? La pregunta clave es si puede el hongo *P.*

glaucum producir penicilina. Pero, se debe analizar antes con qué hongo trabajó exactamente Duchesne. En su tesis no indica el origen del hongo y tampoco entrega características que puedan ayudar a su identificación. ¿Es el hongo *P. glaucum* de 1897 el mismo hongo que hoy denominamos *P. glaucum*? Esta es una pregunta esencial, pues la nomenclatura e identificación de los hongos siempre ha sido un tema de difícil manejo y que puede llevar a errores. En este sentido, el caso de *P. glaucum* y *Penicillium notatum* es ilustrativo. En su origen *P. glaucum* sólo significaba un hongo del género *Penicillium* con un pigmento de color verde (*L. glaucum*: verde). Esta definición era demasiado vaga y amplia y no permitía diferenciar entre diferentes especies biológicas del género *Penicillium*. Actualmente, el hongo que antes se denominaba *P. glaucum* ha pasado a denominarse *P. glaucum sensu stricto* o *Penicillium expansum* (micólogos europeos; consultar plataforma Index Fungorum) y para otros micólogos norteamericanos esta especie ya no existe (NCBI Taxonomy browser). Aún otros micólogos consideran que *P. glaucum* es sinónimo de *Penicillium roqueforti* y que *glaucum* es un epíteto inválido que no debe usarse⁷. Es decir aún hoy, la taxonomía del género *Penicillium* es fluida y extremadamente confusa. En este contexto, es un escenario perfectamente posible que la especie con que trabajó Duchesne haya sido verdaderamente una especie productora de penicilina, como por ejemplo *Penicillium chrysogenum* (antes denominado *P. notatum*) o la especie *Penicillium rubens*, otra especie del complejo *P. chrysogenum* (hoy se ha comprobado que Fleming trabajó con la especie *Penicillium rubens* y no *P. notatum*)⁸. Si así hubiese sido, entonces se podría argumentar que Duchesne comprobó 30 años antes que Fleming que una especie del hongo *Penicillium* competía y destruía bacterias patógenas para el ser humano como *E. coli* y *S. Typhi*. Es destacable que Duchesne no avanzó hasta la etapa de producir extractos de este hongo o en utilizar un medio crecido filtrado para sus experimentos, pero claramente identificó la competencia letal entre hongos del género *Penicillium* y bacilos Gram negativos de la familia *Enterobacteriaceae*. Los cultivos que Duchesne utilizó, lamentablemente, no fueron conservados, pues no era habitual en dicha época conservar los cultivos en ceparios especializados. Si el hongo del género *Penicillium* que utilizó en su tesis producía o no penicilina quedará por siempre bajo el manto de la duda. Sin embargo, se han argumentado dos posibles hechos que apoyarían la idea de que Duchesne trabajó con una especie de *Penicillium* no productor de penicilina. Un hecho conocido es que los cobayos como especie son extremadamente sensibles a la penicilina (esto no ocurre con los ratones y ratas) y les puede causar la muerte. Si los cobayos sobrevivieron a la inoculación con el hongo, se infiere que el hongo inoculado era no productor de

penicilina. Sin embargo, este argumento es débil, pues es bastante probable que la susceptibilidad de los cobayos a la penicilina esté distribuida en una curva normal, y que por tanto existan cobayos que puedan sobrevivir a la inyección de penicilina. El segundo hecho es simplemente estadístico. Son pocas las especies del género *Penicillium* que producen penicilina, por tanto es poco probable que Duchesne haya trabajado con un hongo productor de penicilina (cerca del 2% produce penicilina). Este mismo hecho puede utilizarse en otro sentido. Fleming habría sido extremadamente afortunado en observar justamente el hongo que producía penicilina. Esto no habría ocurrido con todos los observadores que lo antecedieron. Pero eso no es un mérito científico y se podría inferir entonces que su principal virtud habría sido estar allí en el momento adecuado y ser el observador de semejante rareza. Como se destacará en el párrafo siguiente, Fleming tampoco descubrió la “penicilina” como tal, sino que se limitó a trabajar con cultivos crecidos y filtrados de *P. rubens* (lo que hoy se denomina un medio condicionado) que catalogó sucintamente por simplicidad “penicilina”.

Si después de este breve recorrido histórico se vuelve a la pregunta original sobre la genialidad de la observación de Fleming, se podría argumentar ahora con más antecedentes que dicha observación casual no fue una observación genial y que fue realizada previamente por varios investigadores. ¿Logró Fleming luego de su hallazgo purificar la penicilina? La respuesta directa es que no logró purificar el compuesto y que en sus ensayos sobre bacterias *in vitro* sólo utilizó medios condicionados denominados por él abreviadamente “penicilina” (es destacable que, a diferencia de Duchesne, no realizó experimentos con animales)⁹. ¿Trató de asociarse con químicos para purificar el compuesto? No aparece indicio de aquello en la literatura. Sin embargo, en retrospectiva, un gran mérito práctico de Fleming fue su perseverancia en seguir trabajando con su infrecuente especie de *Penicillium* y haber conservado el cultivo puro. Es un hecho esencial en este caso que Florey y Chain hayan podido obtener y trabajar posteriormente con el cultivo de *Penicillium* descubierto y mantenido por el mismo Fleming.

Epilogo

Probablemente, se podría especular que si Howard Walter Florey y Ernst Boris Chain hubiesen encontrado a inicios de la década de 1940 la tesis de Duchesne y que si sus cultivos de *Penicillium* se hubiesen conservado, al realizar su amplia búsqueda de sustancias antibióticas con efecto antibacteriano con el fin de purificar y producir masivamente dicha sustancia para uso en terapia antibacteriana, la historia del descubrimiento de la penicilina que hoy se enseña, sería muy diferente¹⁰⁻¹¹.

Agradecimientos: Quisiera agradecer especialmente a mi colega micólogo Dr. Eduardo Álvarez Duarte, por su inestimable paciencia para ayudarme a entender la oscura y fluida nomenclatura del género *Penicillium*.

Referencias bibliográficas

1. Espinoza A G, Pineda D E. 95 años del descubrimiento de la penicilina. *Rev Med Hondur* 2023; 91(2): 47-9. doi: 10.5377/rmh.v91iSupl.2.17049
2. Shama G. La Moisissure et la Bactérie: Deconstructing the fable of the discovery of penicillin by Ernest Duchesne. *Endeavour* 2016; 40 (3): 188-200. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.endeavour.2016.07.005>
3. Duchesne, Ernest (1874-1942). Tesis médica: Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les microorganismes, antagonisme entre les moisissures et les microbes. 1897. Disponible en: [gallica.bnf.fr / Bibliothèque de l'Université Claude Bernard Lyon](http://gallica.bnf.fr/Bibliothèque_de_l'Université_Claude_Bernard_Lyon). Fecha de acceso: 10 de junio 2024.
4. Duckett S. Ernest Duchesne and the concept of fungal antibiotic therapy. *Lancet* 1999; 354: 2068-71. doi: 10.1016/S0140-6736(99)03162-1
5. Roux G. Précis d'analyse microbiologique des eaux ; suivi de la Description sommaire et de la diagnose des espèces bactériennes. 1892. Disponible en: gallica.bnf.fr. Fecha de acceso : 10 de junio 2024.
6. Pasteur L & Joubert J. Charbon et septicémie. En: *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 54e volume, 1877. pp. 753-70. doi : <https://doi.org/10.3406/rmv.1877.1473>
7. Houbroken J, Vries R P, Samson R A. Modern Taxonomy of Biotechnologically Important *Aspergillus* and *Penicillium* Species. *Advances Applied Microbiology* 2024; 86: 199-249. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800262-9.00004-4>
8. Houbroken J, Frisvad J C, Samson R A. Fleming's penicillin producing strain is not *Penicillium chrysogenum* but *P. rubens*. *IMA FUNGUS* 2011; 2(1): 87-95.
9. Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *Br J Exp Pathol* 1929; 10(3): 226-36. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2048009/>. Fecha de acceso: 10 de junio 2024.
10. Goldsworthy PD and McFarlane AC. Howard Florey, Alexander Fleming and the Fairy Tale of Penicillin. *MJA* 2002; 176: 178-80. doi: 10.5694/j.1326-5377.2002.tb04349.x
11. Giraldo-Hoyos N. Historia de la penicilina: más allá de los héroes, una construcción social. *Iatreia* 2021; 34(2): 172-79. doi 10.17533/udea.iatreia.79