

HUMAN SYNERGIES IN THE EVOLUTION OF MICROBIOLOGY: SHORT STORIES

Corrie Allaert Vandevenne (CREOLIA, Montpellier, France) callaert@gmx.es

Cécile Lahellec (French Food Safety Agency, Maisons-Alfort, France) cecile.lahellec@sfr.fr

Introduction : Cécile Lahellec

It is my very great pleasure to be here today for the XIith Workshop on Rapid Methods and Automation in Food Microbiology organized in Barcelona by our young colleagues, Josep and Marta , and I would like to thank them very warmly for their request to use human synergies for this first presentation ..It will be the first time in this workshop it will be possible to hear a two voices partition . As you may have seen on the program , those two voices are that of Corrie Allaert and mine – we both have been involved in that science when the techniques and material were still very close of those used in Pasteur time and , incidentally , we met in Lille for the first time in 1967...

So , during the next minutes , often telling you short stories , we shall speak on “ human synergies in the evolution of microbiology ”

Why that choice ? : as everybody knows, the evolution of each field of our knowledge is highly dependent of human synergies ; of course , that is true in microbiology : the microbiology of today differs from that of yesterday in different aspects

The “two voices partition ” Corrie Allaert and I propose you today is as follows :

- In the first part , you will hear of the life , of some events in the life of some well-known microbiologists
- In the second part, each of us will tell you about her beginnings in microbiology
- In the third part, I shall try to examine with you, shortly, how the face of microbiology was deeply modified by the birth of rapid methods and automation in microbiology .

Then , finally , Corrie Allaert will draw a short conclusion .

Of course, by the way, the style of our presentations will be somewhat different .. the first difference you will notice is that Corrie will speak Spanish, what I am unable to do .

No problem, I think; thanks to our so nice translators !

First part: Memory of some events in the life of well known microbiologists

Como es imposible dar un paseo completo por la evolución de la microbiología, no solo por falta de tiempo, pero también por su inmensa complejidad, voy a dar unos ejemplos que me han marcado personalmente, ejemplos que para cada uno de nosotros/as pueden ser diferentes.

En el pasado como hoy en día, nos encontramos con la feroz competitividad para ser el primero en descubrir la bacteria o el virus que es la causa de una enfermedad. Todos nos acordamos de la famosa polémica referente al agente del SIDA, polémica entre Luc Montagnier del Instituto Pasteur y Robert Gallo en los EEUU. Parecía imposible que en un oscuro laboratorio del Instituto Pasteur se hubiese identificado el agente del SIDA cuando en EEUU disponían de unos laboratorios y medios financieros muy superiores.

Muchos científicos han sido olvidados, no reconocidos, en particular algunas mujeres. Hace poco, el viernes 31 de mayo, salían en Google unas placas de Petri con motivo del 161 aniversario del descubrimiento de Julius Richard Petri. Y me hice la pregunta ¿es más importante el contenedor que el contenido? Casi nadie conoce el nombre de Fanny Eilshemius, la mujer que tuvo la idea de usar agar-agar en vez de gelatina, lo que permite, todavía hoy, aislar las bacterias y tener cultivos puros para poder identificarlas. ¿No tendríamos que llamar el agar-agar agar Eilshemius? Al casarse con el Sr. Hesse, esta mujer perdió su apellido y sus derechos de autor.

Menos mal que Google recordó el 25 de julio, el 93 aniversario del nacimiento de Rosalind Franklin, "the dark lady of ADN". Pero esto es otra historia o ¿quizás no tanto? En 1943, Oswald Avery, un científico tímido y ya demasiado viejo para ir a la guerra, extrae el ADN de un neumococo muerto y lo introduce en una cepa viva. Se da cuenta que acaba de transmitir los caracteres hereditarios de la cepa muerta a la cepa viva.

Dubos dijo: "en la ciencia, la reputación va para el hombre que convence al mundo y no para aquel que tiene la idea en primer término". ¿Por qué Semmelweis ha sido totalmente olvidado hasta hace poco y Louis Pasteur consiguió una fama mundial? ¿Por qué Fleming y no otros antes ?

1. Philippe Ignace Semmelweis: 1818-1865, Budapest, (Tesis de Medicina París 1924: Louis Ferdinand Celine).

Nace en una familia de 8 hijos. Semmelweiss tiene un carácter apasionado, es esclavo: es brutal en todo y sobre todo consigo mismo. Socialmente, era torpe.

En esta época, 9 de cada 10 operaciones quirúrgicas terminaban con la muerte por infección. Los médicos lo explicaban según la consistencia del pus: "pus bien ligado, pus de buena naturaleza, pus laudable".

Semmelweis es maestro en cirugía y doctor en obstetricia y trabaja en Viena. Estamos en la época del imperio Austrohúngaro. Ahora imaginemos dos pabellones de maternidad, de construcción idéntica, contiguos, en los jardines del Hospicio general de Viena. El profesor Klin dirige uno de ellos. El otro se encuentra bajo la dirección del profesor Bartch. Semmelweis se encarga de las admisiones y observa que las mujeres le suplican que las deje entrar en el de Bartch. Esto en nombre de su vida y en nombre de sus otros hijos. Es que se muere más en el pabellón de Klin. Hasta prefieren dar a luz en la calle, donde los peligros son mucho menores. En el pabellón de Bartch el tacto es practicado por alumnas comadronas mientras que en el de Klin son los estudiantes de medicina que lo practican. Se decide que las comadronas sean intercambiadas con los estudiantes. Pero la muerte sigue a los estudiantes. Klin, cada vez más inquieto, y cuya actividad obstétrica está rodeada por una trágica reputación en toda Austria, trata de explicar que son los estudiantes extranjeros los que propagan la fiebre puerperal y se ordenan expulsiones. Se produce una pequeña mejoría pero Semmelweis no se deja convencer. Las causas cósmicas, telúricas, hidrométricas que se invocan a propósito de la fiebre puerperal no pueden tener ningún valor para él. Sus enemigos son cada día más numerosos y se ríen de sus esfuerzos. Cuando su amigo Markusovsky va a verle, le confiesa que ya no puede dormir, que el sonido desesperante de la campanilla que precede el sacerdote con el viático ha penetrado para siempre en la paz de su alma. Se suprime temporalmente la campanilla y el sacerdote da un rodeo para llegar a la cabecera de las moribundas. Finalmente Semmelweis decide "realizar experimentos para ver" como decía el Profesor Bernard. Pide que todos los estudiantes se sometan a un lavado de manos antes de entrar en contacto con las mujeres embarazadas. Todo el mundo se pregunta el porque de esta medida que no corresponde a nada dentro del espíritu científico de la época. Semmelweis hace disponer lavabos en las puertas de la clínica. Klin pide una explicación de este lavado previo y sin duda lo ve incluso como una vejación. Por otro lado Semmelweiss es totalmente incapaz de darle una respuesta plausible o una teoría adecuada. Klin se niega de lleno. Semmelweis nervioso pierde los estribos y se olvida del respeto que debe incluso al peor de sus maestros. Es brutalmente destituido.

El incidente causa gran conmoción en los círculos médicos e incluso en la Corte. Semmelweis se va con su amigo Markusovsky y tras 2 meses regresan a Viena. Se entera que su profesor de anatomía acaba de sucumbir como consecuencia de un corte que se había hecho durante una disección. Entonces Semmelweis pensó que había que culpar a las secreciones de los cadáveres del contagio. Estas ínfimas partículas cadavéricas solo eran reconocibles por el olor. Semmelweis decide desodorizar las manos con una solución de cloruro de calcio. En el mes que sigue,

la mortalidad cae al 12% y luego con más medidas al 0,23%. Pero, como dice Céline, "la Razón no es más que una pequeña fuerza dentro del universo". La obstetricia y la cirugía rechazan con odio el progreso que se les ofrece. El personal del hospital y los estudiantes declaran estar cansados de estos lavados malsanos con cloruro de calcio. El escándalo alcanza tal dimensión que el ministerio se ve obligado a destituir a Semmelweis por segunda vez. Skoda, su amigo, le defiende delante de la academia de las ciencias y exige el nombramiento de una Comisión para examinar los resultados. El ministerio prohíbe que se reúna la comisión, al tiempo que ordena a Semmelweis que abandone Viena. Huyendo de Austria, Semmelweis vuelve a Budapest donde avanza la revolución. En 1849, el ejercicio de la medicina apenas le permite vivir. Es víctima de dos accidentes sucesivos que esta vez consiguen tumbarle. Después de 7 años de silencio el azar le reintegra a su destino. Se entera de que el profesor Michaelis de Kiel se ha suicidado después de asistir al parto de una de sus primas. Ésta sucumbió unos días mas tarde de infección puerperal. Y al enterarse, Semmelweis sale de su torpor.

Vuelve a Viena, donde ocupa la dirección de la maternidad de Saint'Roch. Pero todos se niegan a aplicar sus medidas. Redacta su libro: "La etiología de la fiebre puerperal". No obstante su agresividad lo estropea todo. En una carta abierta a los profesores de obstetricia los llama "asesinos" por oponerse a las reglas que ha prescrito. Dice Céline "Se había evadido del cálido refugio de la razón". En la mañana del 22 de junio de 1865, Semmelweis fue conducido directamente al manicomio. Allí murió el 16 de agosto a los 47 años tras una agonía de 3 semanas.

Pasteur iba a ilustrar cincuenta años después, de forma irrefutable y total, la verdad microbiana.

2. Louis Pasteur nace en Dole, Jura, Francia, en 1822. A la edad de 11 años y estando jugando en su pueblo, oye unos gritos. Ve a un hombre que llega corriendo. Ha sido mordido por un lobo. El único tratamiento que existe entonces es quemarle las heridas con un hierro al rojo vivo. La herida parece curada pero no la rabia. Durante más de una semana se oyen terribles gritos, día y noche, en la casa del hombre. De golpe, el silencio y Louis se entera por sus padres que han tenido que ahogar al hombre entre dos colchones para abbreviar sus sufrimientos y los de los demás. En 1847 presenta su tesis de física y química. Obtiene un premio en física y un mediocre en química. Le gusta la soledad, la pintura y es propenso a soñar. En 1849 esta estudiando la disimetría molecular. El 27 de marzo encontrándose en su laboratorio, su compañero le dice: ¿Louis te acuerdas a qué día estamos? Se casaba a las 11 h y llega justo a tiempo sin haber tenido tiempo de cambiarse. El matrimonio tendrá 5 hijos: Jeanne, Jean-Baptiste, Cécile, Camille y Mari-Louise. Pasteur se felicita que sus hijos estén vivos a diferencia de lo que ocurre en muchas otras familias. Pero dos van a morir de fiebre tifoidea y Camille de un tumor en el hígado. Unos años más tarde, afirmará sin ninguna duda, que son los médicos y sus ayudantes que llevan la muerte a las parturientas. Había visto en las infecciones de fiebres puerperales unos microbios que se agrupaban en cadenillas o rosario. Declara además que la ropa blanca tiene que pasar por una esterilización en el autoclave (puesto a punto por él y Chamberland).

A pesar de sus embarazos, Marie, su mujer, sigue haciéndole de secretaria y le ayuda a mejorar su dicción. Roux dice de ella que era su mejor colaborador! Era muy tímido y le costaba mucho transmitir sus enormes conocimientos. Trabaja como mínimo 15 horas al día y se siente culpable cuando tiene que pasar un día fuera del laboratorio.

Los trabajos de laboratorio y las comunicaciones se multiplican: generación espontánea, fermentaciones acética, del alcohol de remolacha, enfermedades del vino, de la cerveza, láctea, enfermedades del gusano de seda, cólera de las gallinas, carbunco, etc. Se niega a patentar sus descubrimientos y cuando pide al emperador un laboratorio en condiciones, este le pregunta por qué Liebig en Alemania se ha hecho rico y él no. Contesta que la ética impide que los científicos saquen beneficios de sus descubrimientos.

Con la generación espontánea suscita un loco e inexplicable odio pero Pasteur nunca se desmorona. Tiene fe en sus experiencias y sus resultados. Las presentaciones de sus resultados parecían más un juicio que una presentación científica. El genio de Pasteur viene de su visión del hecho de que la diseminación de los gérmenes

es la causa de la fermentación, la putrefacción y las enfermedades contagiosas. Cuando Pasteur se va de vacaciones, todo se para en su laboratorio y cuando se reprende el trabajo se da cuenta que las bacterias que se han dejado de lado ya no transmiten la enfermedad. Efectuando lentes pasos de caldo en caldo es como Pasteur conseguirá demostrar lo que intuía: alargando los tiempos de resiembra, se consigue reducir el poder infeccioso de los microbios.

A veces Marie Pasteur bajaba al laboratorio cuando su marido estaba ausente y preguntaba a sus alumnos: ¿qué le pasa esta vez? ¡Hace más de un mes que no ha abierto la boca! Pero una vez solucionada la duda, volvía a tener los pies en la tierra con una gran sonrisa. Nunca usaba un vaso sin examinarlo de manera meticolosa ya que nada podía escapar a sus ojos miopes. Rascaba la corteza del pan sin preocuparse de que esto pudiese molestar el ama de casa que había preparado la comida. Tenía fobia al apretón de manos y por ello lo consideraban arrogante. Tenía tal fobia de los microbios que llevaba casi siempre guantes para no contaminarse ni contaminar a los demás. Pero su amigo medico sigue pinchando a sus enfermos con unas agujas que lleva en la solapa de su traje a fin de no perderlas. Nunca le ha gustado hablar y menos de mayor. Calma y concentración son las palabras clave de la vida en el laboratorio. Se entra en su laboratorio como se entra en religión.

1868: es nombrado doctor *honoris causa* por la universidad de Bonn. En octubre sufre su primer ataque de hemiplejía. Tiene 46 años. Pero sigue trabajando. Un sobrino suyo le hace de manos. Marie escribe página por página todo lo que le dicta.

La rabia, 1881: el último paso de su carrera. Por fin se ataca a la patología humana. Si no lo hizo antes es porque se necesitan muchos "cobayas" para los experimentos y esto no se puede hacer con humanos aunque... Entonces las dificultades eran enormes. Primero para conseguir un cultivo puro pero en este caso no había manera de comprobarlo. Prepara una vacuna a pesar de que no se haya podido ver el agente patógeno al microscopio. Sustituye los medios de cultivo artificiales por organismos vivos. Galtier ya había descubierto que se podía inocular la rabia a conejos y conejos de indias. Para ello, Pasteur suspende sobre un hilo en un frasco cerrado un trozo de médula de un conejo infectado por la rabia. Con unos trozos de potasa elimina la humedad. A medida que la médula se va secando, va perdiendo virulencia y al cabo de 14 días ya no transmite la rabia. Se Tritura con agua destilada y se inocula a perros. Despues se les inocula la de 13 días y así seguido hasta llegar a inyectar la médula virulenta. Los perros parecen inmunizados. Pero aquí no terminan sus torturas. Hacen que unos perros rabiosos les muerdan y además, después de una trepanación, se les inocula el virus. Siguen sin contraer la enfermedad. Se ha descubierto la vacuna de la rabia. No fue hasta 1903, 8 años después de la muerte de Pasteur, que las experiencias hablaron de virus filtrantes. La existencia de partículas virales se demostró en 1963 (más de 80 años después) gracias al microscopio electrónico.

En el caso de la rabia, la vacuna tiene que actuar más deprisa que la enfermedad y la larga incubación de la rabia permite estimular la inmunidad. El trabajo sobre el cerebro y la médula ósea es muy delicado. Las inyecciones intracerebrales se hacen en 2 tiempos: hay que tomar las muestras de médula infectada de numerosos animales rabiosos sin dejarse morder. La sobrina del Dr. Roux describe así las operaciones: Roux, Chamberland y Thuillier se inclinaban sobre una mesa en la cual un gran perro está atado, todos los músculos contraídos y los colmillos a la vista. Se tomaban muchas precauciones pero si, a pesar de ellas, el animal hacía una herida a uno de ellos y que un poco de médula rágica llegase a la herida, entonces empezaban semanas de angustia: ¿va a desarrollar la rabia? Al principio de cada sesión se cargaba una pistola y si una desgracia hubiese ocurrido, el más valiente de los otros dos tenía que pegarle un tiro en la cabeza.

Valery-Radot, el yerno de Pasteur, cuenta: los dos perros estaban rabiosos a no poder, sobre todo el enorme bulldog aullando y babeando en su jaula. Se le acercó una barra de hierro y se echó encima. Costó muchísimo quitársela. Pero al acercarle un conejo, lo coge y lo echa al fondo de la jaula sin morderle. El problema era que había que inocular los conejos con la baba del perro. Entonces con una cuerda se consigue acercar al perro a los barrotes, se le ata la mandíbula y con el perro ahogándose de rabia, los ojos llenos de sangre, el cuerpo sacudido

por espasmos y Pasteur a unos centímetros de esta cabeza, aspirando la baba con una pipeta Pasteur. Valéry-Radot dice: en este sótano es donde Pasteur me pareció el más grande.

Pasteur recibe muchas demandas para vacunar a humanos que han sido mordidos. Estamos en 1885. Aquí unos casos.

Joseph Meister: la madre se presenta con su hijo que ha sido mordido por un perro rabioso. Tiene nada menos que 14 heridas. 60 horas después, el 6 de julio, se le inyecta médula desecada durante 15 días y así seguido con médula cada vez menos atenuada. El 16 de julio se le inyecta el último paso, la médula de un perro rabioso reforzada por diversos pasos en conejos. Durante las dos noches siguientes, Pasteur será incapaz de pegar ojo. Pero el niño está bien y podrá volver a casa. Más tarde será el portero del Instituto Pasteur de París y se suicidará cuando los alemanes intentaron entrar en la cripta donde Pasteur y su mujer están enterrados.

6 pequeños pastores han sido atacados por un perro rabioso. El mayor, **Jean Baptiste Jupille**, que con apenas 15 años, los protege pero tiene varias mordidas. El alcalde del pueblo escribe a Pasteur y a pesar de que hayan pasado 6 días desde el drama, Pasteur acepta vacunar. El niño se cura.

9 de noviembre de 1885: un padre y su hija. La niña, de 10 años llega al laboratorio. Ha sido mordida hace un mes. Todo el mundo le desaconseja tratarla ya que es demasiado tarde. Pero él, todo compasión, piensa: aunque sólo tuviese 1 posibilidad sobre 10.000 de salvarla, tengo que intentarlo. Tiene heridas en la cabeza que supuran. Al principio la niña va bien pero a partir del 19 ya no. Muere el 6 de diciembre después de unos horribles sufrimientos. Pasteur se queda triste y desamparado. Sus enemigos le hacen responsable de la muerte de la niña. Ya no le quedan ni fuerzas para defenderse. Ya no baja al laboratorio.

Diciembre 1885: una petición de los EEUU para curar a 5 niños americanos.

Marzo 1886: petición de Smolensk en Rusia. Veinte personas mordidas por lobos. Estas heridas son más profundas que las hechas por perros. Uno de ellos es un papa. Atacado cuando iba a la iglesia, le falta una parte de la cara. Una mujer no tiene ya nariz ni orejas. A un niño, le faltan los dos brazos. Los manda primero al hospital para que les curen las heridas. Pero algunas heridas son demasiado antiguas y se les abrevia los sufrimientos ahogándoles entre dos colchones. **Los 16 restantes vuelven curados a Rusia.**

1887: primer número de los anales del Instituto Pasteur de París. **Segundo ataque de parálisis.**

1888: inauguración del Instituto Pasteur.

1891: creación del Instituto Pasteur de Saigón (Ho Chi Minh).

1892: recepción en la Sorbona para los 70 años de Louis Pasteur.

1894: Yersin identifica el bacilo de la Peste en Hong-Kong. **Pasteur sufre otro ictus.**

1895: Pasteur muere a la edad de 73 años.

Robert Koch y su escuela se dedican a la descripción de las bacterias.

Pasteur y sus alumnos insisten en sus transformaciones y su inestabilidad. Dice:

“Cuando uno cree que ha descubierto un importante hecho científico, con la fiebre de anunciarlo, pasar meses, años combatiéndose a uno mismo, esforzándose por arruinar sus propias experiencias y proclamar su descubrimiento solo cuando se han agotado todos las hipótesis contrarias, es una tarea muy ardua”. En su último discurso, leído por su hijo, declara: “vivir en la paz serena de los laboratorios y las bibliotecas”

3. Alexandre Fleming (1881-1950)

En 1946, la penicilina se vende libremente en las farmacias. Con ello empieza la microbiología contemporánea: vacunas, sueros, antibióticos triunfan sobre todas las infecciones...

La aventura de los antibióticos había empezado mucho antes. Durante siglos, los árabes en África habían curado las heridas con mohos recogidos en el arnés de los caballos. Pueblos indios de América conseguían acortar las supuraciones de las heridas recubriendolas con madera podrida. A principios del siglo XX, habitantes de Europa central guardaban el pan enmohecido para formar una pasta que servía para curar las heridas.

En 1877, Pasteur y Joubert hablan de la importancia del fenómeno llamado, según el espíritu darwinista, "competencia para la vida de los microorganismos o antibiosis". Charles Nicolle pone en evidencia que varias especies microbianas producen sustancias capaces de inhibir el bacilo de Koch. En 1909, el danés Schiotz observa que los enfermos que sufren de anginas banales nunca contraen la difteria aunque estén en contacto con enfermos. Se atreve a inocular el estafilococo de las anginas a los portadores del bacilo de Loeffler. Otro medico, en Manila, inocula a su hijo con los estafilococos de un furúnculo para evitar la difteria.

En 1897, un estudiante de medicina, Emile Duchesne, describe en su tesis las propiedades profilácticas de la penicilina. Demuestra que el *Penicillium glaucum*, moho del queso "bleu d'Auvergne" o que también se encuentra en el pan viejo, es capaz de eliminar toda una flora microbiana. Llega a inyectar a unos cobayas una mezcla de *Penicillium* y cultivos de patógenos. Mueren los que no se les ha puesto el *Penicillium* y todos los demás sobreviven. Presenta su tesis, ¡y no pasa nada más!

En 1912, el pasteuriano Albert Vaudemer vuelve a trabajar con el *Penicillium glaucum* que impide el desarrollo de ciertos patógenos. Un año más tarde, el Prof. Rappin del Instituto Pasteur de Nantes demuestra la actividad de algunos mohos sobre el bacilo de Koch. En 1921, Lieske descubre que algunos microorganismos del suelo, los *Actinomycetes*, contienen principios anti infecciosos. Hacia 1923, los belgas Gratia y Dath y los rusos Zoukerman y Minkewitz establecen, con la misma precisión que Fleming 5 años más tarde, el poder terapéutico de *Penicillium notatum*. En 1928, los doctores Papacostas y Gaté (Instituto Pasteur de Lyon) citan decenas de descubrimientos parecidos en su libro: "Les associations microbiennes, leurs applications thérapeutiques".

El mismo año se produce lo que va a cambiar la vida de las enfermedades infecciosas.

Alexander Fleming, de profesión tendero, empieza a estudiar medicina gracias a una herencia. Trabaja sobre estafilococos en un pequeño laboratorio del hospital Saint Mary's en Londres. El sitio es viejo y toda clase de esporas de mohos flotan en el aire. Un día se da cuenta que una placa con estafilococos que se le olvidó poner en la estufa, presenta un extraño fenómeno: un moho, *Penicillium glaucum* (el mismo de Duchesne) ha invadido la placa sin dejar crecer al estafilococo. Después consigue aislar un moho todavía más eficaz, *Penicillium notatum* y comprueba que no tiene ningún efecto tóxico sobre las heridas superficiales. El problema es que para curar infecciones más graves hay que producir grandes cantidades de penicilina y ser capaz de purificarla. Además esta penicilina es muy inestable y Fleming abandona. El Prof. Jean Bernard se lamenta 20 años más tarde escribiendo: los hombres durante más de 10 años siguen muriendo de septicemia o meningitis cuando en un laboratorio londinense hay unos tubos con mohos que les podría salvar.

Fleming escribe varios artículos pero en 1935 un nuevo medicamento, el Prontosil, la primera sulfamida, parece enterrar el descubrimiento de Fleming. Nada parece resistirse a las sulfamidas pero empiezan los casos de resistencia y se descubren toxicidades inesperadas.

1938: la palabra antibiótico entra en el vocabulario de la medicina gracias a René Dubos, especialista en bacterias del suelo. Del *Bacillus brevis* se saca la tyrotricina, una mezcla de dos antibióticos con un poder bactericida enorme pero de gran toxicidad. Hasta le acusan de haber matado a su mujer con este antibiótico. A nivel local

hace maravillas. Es gracias a R. Dubos que los antibióticos entran en la vida cuando se declara la II guerra mundial (1939-1945).

Con el recuerdo de los horrores de la primera guerra mundial, en 1939, un equipo de científicos ingleses de la universidad de Oxford, se pone a trabajar con la firme decisión de sacar provecho de las propiedades de *Penicillium notatum*. Chain, que se ha enterado de los trabajos de Fleming, llevará este último a la posteridad. Tres retos se presentan: producción masiva, purificación y estabilización. A fuertes dosis, la penicilina es tóxica debido a sus impurezas pero purificada su poder bactericida se multiplica por 100.

En 1941, Chain y Florey disponen de unos gramos de penicilina operativa. En un hospital de Londres se está muriendo un policía de 43 años, Albert Alexander. El 12 de febrero recibe 200 mg de penicilina y luego inyecciones de 100 mg cada 3 horas. En 24 horas el cambio es espectacular. Al cabo de 5 días se paran las inyecciones y parece curado. El 22 de febrero se empieza a tratar a un chico con septicemia. Pero de pronto Alexander empeora y no queda penicilina. Muere el 15 de marzo pero el otro enfermo sobrevivirá. Los científicos americanos, buscando cepas de *Penicillium* más activas, piden cepas de mohos en todo el mundo. Una chica, técnico de laboratorio, trae del mercado un melón enmohecido del que se sacará *Penicillium chrysogenum*. Todavía hoy este moho es la base de todas las penicilinas, ¡pero nadie se acuerda de Mouldy Mary!

Fue en 1943, en Sicilia, donde se utilizó por primera vez la penicilina a gran escala con resultados espectaculares. Despues de la guerra, la penicilina se ha hecho escasa y está estrictamente reservada a los hospitales militares. La novela de Graham Greene, "El tercer hombre" con su película, de Carol Reed, ilustra este drama.

En 1945, Chain, Florey y Fleming reciben el premio Nobel. Pero el público atribuye toda la gloria a Fleming olvidando a todos los demás.

Second part. Our beginnings in microbiology: C. Allaert

Mi vida profesional en microbiología empezó en el Instituto Pasteur de Lille (Francia). Las estufas, los olores, el ambiente, los microscopios en el desván, todo recordaba a Pasteur. Hacíamos los análisis de varios hospitales de la región. Durante ciertas épocas, teníamos hasta 80 análisis en curso por persona. La tinción de Gram tenía una gran importancia. Recuerdo un episodio de difteria para el cual se pensaba que una marca de chocolate tenía un papel en la contaminación. El profesor Beerens era capaz de diferenciar *Corynebacterium diphtheriae* de las corinebacterias saprófitas por su aspecto morfológico. En un mismo porta hacíamos hasta 10 preparaciones diferentes. Recuerdo también la importancia de los olores, por ejemplo para detectar la presencia de *Haemophilus* y aquí también en caso de duda: tinción de Gram. Trabajando en varios laboratorios europeos, me chocaba la dificultad para encontrar los colorantes de Gram. Siempre había, pero muchas veces olvidados en el fondo de un armario.

Otro recuerdo: los gritos de los técnicos/as al tener que pinchar unos ratones para determinar el tipo serológico de un *Clostridium botulinum*.

Como el profesor Beerens era especialista en anaerobios, las estufas estaban repletas de grandes galerías de tubos, la mayoría de ellos cubiertos con una capa de parafina. En caso de metabolismo explosivo (*Clostridium perfringens*), encontrábamos la estufa inundada de este cultivo. Menos mal, como eran anaerobios, no podían sobrevivir.

En esta época, el contagio por *Mycobacterium tuberculosis* era frecuente. Cada 3 meses nos tocaba pasar una radioscopia y los días siguientes eran de total angustia. ¿Me llamarán? Tratamiento y/o sanatorio nos alejaba por unos meses del trabajo.

Pasar de la microbiología clínica a la de los alimentos y aguas fue chocante. Había que hacer diluciones, dar un número, enriquecer e inhibir. En clínica, el patógeno está presente casi en estado puro en la mayoría de las muestras. Este paso se realizó con los cursos internacionales del Instituto Pasteur de Lille sobre microbiología de alimentos y aguas. Aquí quiero recordar y dar las gracias a los profesores Buttiaux (*Buttiauxella*), Beerens, Leclerc (*Leclercia*) y Mossel. Trabajando en Agrónomos en Lleida, tuve que resolver un problema de contaminación de conservas. Recuerdo lo apasionante que puede ser trabajar sin protocolo definido para descubrir al culpable. Aquí también la tinción de Gram fue de gran ayuda.

Cuando empecé a trabajar para una empresa americana, ¡recuerdo la cara de horror que me pusieron cuando me vieron pipetear con la boca!

En España tuve la suerte de conocer el Instituto Ferran que, al igual que el Instituto Pasteur, conservaba olores y hasta cultivos de las celebres vacunas que él preparaba. En una carta de junio de 1885, Louis Pasteur escribe al Dr. Ferran animándole a seguir a pesar de las críticas. Pasteur le da consejos y dice enviarle una comisión para evaluar los resultados de su vacuna contra el cólera. Los doctores Roux y Metchnikoff reconocen que Ferran es el autor de esta vacuna en una carta de 1905. Lo llaman "le savant de Barcelone". Fundó en Barcelona el primer Instituto antirrábico después del de Pasteur en París.

Our beginnings in microbiology: C. Lahellec

My new professional life began at the end of the 60's . I was working in what was called the Poultry Experimental Station of Ploufragan (Brittany) ; I was requested to work on poultry microbiology with the following objective : to help poultry industrials improving the quality and the shelf-life of their products (the industrial production of poultry was still at its beginnings and poultry processors had problems with the shelf-life of their products) .

That was not so easy for different reasons :

- I did not know anything about poultry processing plants ; my knowledge in microbiology was very limited , and we had no laboratory ..

As my presentation time is very short , I shall focus especially on microbiology and try to make you show the impact of human synergies :

Of course , I needed to make choices, the good choices , from the beginnings . I was much helped in that way by Dr. Y. Le Turdu , who was the director of the veterinary departmental laboratory situated not so far ; he welcomed me in his lab and microbiology became more and more familiar.. once he told me that a well known scientist , Dr. Ella Barnes , who was working at the Food Research Institute in Norwich (UK), gave a course, each year, on poultry microbiology in Pasteur Institute in Lille (F). I found her address and was allowed by my director to write her and , finally , at the end of 1966, I was in Norwich for a few days ..that was my first visit to UK !

The stay in Ella Barnes' laboratory was very helpful and fruitful : of course, she knew a lot about poultry microbiology ; she gave me a lot of information about the sample techniques , the microorganisms to study , told me it was necessary , in a first time to repeat experiments from a large number of samples (all details can be found in the Bulletin d'information de la Station Expérimentale d'Aviculture , 1970, 10 (3), 85-106) for quantitative studies ; as I was much interested in knowing the composition of flora, she gave me different information about the microorganisms identification . I could also , during my stay, visit a turkey processing plant.. and invited me to come back , what I did , and giving me very good advices : for example not to try to study too many things at the same time ..

During a few years , we did a lot of quantitative studies along processing lines but , simultaneously, a part of our work was devoted to the identification of psychrotrophic flora of poultry carcasses : I would like to explain shortly what the procedure was :

- the first step was to examine the bacteria under the microscope (fresh state and after a Gram stain) . As you know, Christian Gram (1853-1938) was a Danish microbiologist but you may not know that the grand-daughter of Christian Gram , Lone Gram is also a microbiologist (she gave a presentation during the Congress of the French Microbiology Society in Nantes (F) , in 2009).

In order to examine the shape and the color of bacteria , we used a microscope which was equipped with an optical tube ; in that way , it was possible to draw the bacteria .. we used a blue sheet for Gram positive bacteria and pink for Gram negative .

That was the first step ; after identification , we collected the data using special strong cardboard perforated with holes all around and we perforated for a positive character , using applicators for triple forecast; then it was easy , using a knitting needle, to know the number of strains presenting a given character . You can refer , for the work realized, to a paper published in the Journal of Applied Bacteriology , 1975, 38, 89-97, which is the result of a study from 5,920 strains (it had been revised by Dr. Ella Barnes and Prof. Maurice Ingram).

Now , for the end of that short presentation, I would like to remember the memory some of the well-known microbiologists I was so lucky to meet during the first years of my career : Maurice Ingram, David Mossel, Betty Hobbs ...

Third part: The birth of Rapid Methods and Automation in Microbiology: Cécile Lahellec

I try to remember the first information I received concerning rapid methods .

I think that was in May 1967: I was following the course of Prof. BUTTIAUX in Pasteur Institute in Lille : I remember he told us that techniques like contact plates would be helpful in order to evaluate the hygienic quality of surfaces in industries ; he told us also about the possibility of placing a tape or nail polish in contact with a surface , then on a culture medium in a plate ..

In fact ,in France, around the years 1970, different laboratories (I think here to the laboratories of Prof. Bourgeois in Quimper, Prof. Leclerc in Lille, Dr. Richard in Jouy en Josas) were much interested in rapid methods for the control of surfaces or products (milk, water ...). I must say that there was a tremendous increase of the food industries and the hygienic control was a necessity .

In the laboratory I was in charge of, we became much concerned by rapid methods when we were requested to participate in the elaboration of microbiological standards for poultry further-processed products ; in that context, we began to study pathogenic microorganisms, and especially *Salmonella* .

Very early , we had to think to a method to identify *Salmonella* quickly ; I had a contact with A. Baird-Parker who gave us information on the sero-enrichment serology ; that method was currently used in our lab and was even recommended in the official regulation of December 1979 for poultry products . I also remember I was requested to present a paper on the application of immunology in Food Microbiology .. Everybody knows that , later on, immunology became one important field of research for the development of rapid methods ...

The necessity of using rapid /alternative methods was more and more present in our minds .

One important step could be reached when I was as lucky as to participate to the 9th International Symposium of Microbiology and Food Hygiene in Kiel (D) , in September 1974.

I must say we were 3 French scientists only ; my English was not so good , but I found much interest hearing the presentations ; I remember two things and events especially :

- I was fascinated by the stomacher and , immediately when I came back to my laboratory , we ordered one of those fascinating apparatus ; before using it at a large scale, we did an experiment to compare the stomacher with the blender we used previously ; later on , the stomacher was also adopted by our colleagues working in animal health ..
- The second event was really unexpected : at that time , scientists were reading their papers ; even the use of slides was not so frequent , but , suddenly , we had an interesting and unusual presentation ; the scientist was a young American Chinese ; he was not reading, but speaking to the audience , and quite dancing while making us show wonderful slides ...
- He explained us how ,using traditional methods , we could use far less media and study simultaneously a large number of strains . The principle was very simple : he used the wells of micro plates instead of tubes , and a multi-inoculator instead of platinum loops ; so 96 wells could be inoculated at the same time ; moreover , that young scientist , Prof. Fung , of course , was working on poultry products !!! That was my work subject That is the reason why I asked Dr. Daniel Fung if he would be so kind as to send me some reprints ; he sent me reprints and also his thesis : that was the beginning of a long story in science and friendship ...
- The beginning of the story is as follows : once , end of 1976 , Dr. Fung , his wife Catherine and their son Francis, were in London for a symposium on rapid methods ; he wrote to me he would like to visit our laboratory ; I must say two things : at first , Dr Fung and his wife Catherine were very surprised because one of their brothers in law was called Cecil !!!, so they thought I was a man !!!
- Then , Dr Fung visited our laboratory and made us show how he was working . The first multi-inoculator he prepared is no more in the laboratory where I was working ; however , my colleagues could find an inoculator which was made by people working for aeronautic !! and you can see it on a slide ... From that time , we used far less media , studied a far larger number of strains... ; I often tell the following study : once , a politician visited our lab and I explained him we could use less media and work faster .. he answered: so , you have less technicians ! no, I said , we do more work during the same time !
- You know what happened later concerning rapid and alternative methods ; what is sure is that the development in rapid methods and automation has been very fast ; I told previously I had been requested to present a paper on immunological methods and their future in Food Microbiology : that looked as fiction .. However, a few years later , from 1980-1985, immunological methods were currently used , molecular biology made its first steps ; in Paris , we had an interesting colloquium on rapid detection of pathogenic bacteria in food ; it is also fascinating to follow the symposia on Rapid Methods and Automation in Microbiology which took place in Manhattan, KS from 1981 and , more recently, in Barcelona ; you will be quickly aware of the evolution in that field ...

It seems very impressive to think to the rapidity of the evolution of rapid/alternative methods in Food Microbiology : it is also very impressive to think to the possibility of international studies and communication in the case of outbreaks for example ; the progress through Internet have of course to be much emphasized..

All those improvements, of course, are the result of human synergies in different fields of scientific knowledge ...

Conclusión: Corrie Allaert

Todavía hoy las enfermedades infecciosas son la primera causa de mortalidad a nivel mundial. De 3 a 8 millones de personas mueren cada año de cólera.

Los Objetivos de Desarrollo del Milenio (**ODM**) entre 1990 y 2015 (es decir una generación) son:

1. reducir en dos tercios la mortalidad de niños menores de 5 años
2. mejorar la salud maternal y reducir en tres cuartos la tasa de mortalidad maternal
3. combatir el sida, la malaria y otras enfermedades

Entre 2000 y 2007, la fabricación de vacunas y medicamentos fue multiplicada por 4, alcanzando un pico de 28.200 millones de dólares en 2010. La relectura de la historia de la salud indica que las primeras conferencias mundiales acerca del tema en el siglo XIX estaban menos motivadas por el deseo de ganarle la partida a la propagación de la peste, el cólera o la fiebre amarilla que por la voluntad de reducir al mínimo las medidas de carencia que resultaban costosas para el comercio.

1996, William Clinton publica una directiva con una estrategia sobre las enfermedades infecciosas. Se trata menos de un arrebato de altruismo que de una preocupación de seguridad nacional: propagación, consecuencias económicas, retraso en el desarrollo de nuevas moléculas, resistencia a los antibióticos...

La salud mundial es de importancia vital para los EEUU (GLOBAL HEALTH). Las tasas de militares de muchos estados de África infectados por el VIH son muy elevadas. **Treinta años después del inicio de la pandemia de SIDA**, para cada 2 personas que empiezan un tratamiento, se producen 5 nuevas infecciones. Las decisiones financieras favorecen, sin embargo, más el paradigma curativo de la enfermedad, en beneficio de la industria farmacéutica, que la prevención de la transmisión del VIH. La población de África se va a duplicar de aquí a 2050 y representará el 20% de la población mundial.

Y para terminar, una frase de Carlo Rovelli: “La ciencia es una revolución permanente, una continua evolución, siempre suspendida entre el conocimiento y la duda. Es como construir un barco navegando”. Estamos en una constante co-evolución.

Muchas gracias y un fructuoso futuro a todos vosotros/as.

Bibliografía:

1. Céline, Louis-Ferdinand, 2009. *Semmelweis*. Marbot ediciones España
2. Darmon, Pierre, 1995. *Pasteur*. Edition Fayard, France
3. Besson, André, 2013. *Louis Pasteur. Un aventurier de la science*. Editions du Rocher, France
4. Vallery-Radot, Maurice, 1994. *Pasteur*. Librairie Académique Perrin, France
5. Debré, Patrice, 1994. *Louis Pasteur*. Edition Flammarion, France
6. Geison L. Gerald, 1995. *The private science of Louis Pasteur*. Princeton University Press USA
7. Darmon, Pierre, 1999. *L'homme et ses microbes XVII-XX siècle*. Edition Fayard, France
8. Ledermann, Walter, 2007. *Una historia personal de las bacterias*. RiL editores, Santiago de Chile
9. Maurois, André, 1963. *Fleming La vida de sir Alexander Fleming*. Ediciones CID, España
10. Bertrán, Marcos-Jesús, 1917. *Ferrán La vida de un sabio útil*. Imprenta D. Ribó, Barcelona, España
11. Pous i Mas, Teresa, Moragas i Maragall, Margarida, 1984. *Primer centenari mundial de la vacunació humana: Jaume Ferran (1852-1929)*. Editado por la Fundació Catalana, Institut français de Barcelone, Institut Pasteur de Paris, Instituto italiano de cultura, Laboratorios Leti s.a. i la C.I.R.I.T.