- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.141.152.173 Mon, 29 Apr 2024, 15:18:21

Recenti Prog Med 2015; 106: 285-290

Recenti progressi in TERAPIA:

LA PENICILLINA

Il nome di **Sir Alexander Fleming** *è conosciuto oggi in tutto il mondo sia dal profano che dallo specialista. Certamente in Inghilterra poche onoranze hanno incontrato maggiore consenso dell'ordine cavalleresco conferito nel* 1944 *a Fleming, insieme con il suo grande collaboratore per la penicillina, il prof. Howard Florey.*

Fleming è oggi professore di Batteriologia all'Università di Londra, ed è a capo della Sezione Batteriologica del St. Mary's Hospital di Londra, dove egli ha lavorato per tutta la sua carriera scientifica. Egli è Membro della Royal Society, Membro del Consiglio Britannico di Ricerche Mediche e vincitore del premio Nobel, che egli ha condiviso con Sir H. Florey e con il Dott. Chain, il biochimico del famoso gruppo della penicillina.

A. Fleming è nato nel 1881 *ad Ayrshire nella Scozia, ed è figlio di un agricoltore. Ha compiuto i suoi primi studii nella scuola del villaggio; di qui egli andò alla Kilmarnock Academy e più tardi, quando decise di dedicarsi agli studii di Medicina, alla Scuola Medica del St. Mary's Hospital di Londra. È interessante notare come egli ricordi che in quel periodo la ragione principale della scelta del St. Mary's Hospital fu la ottima fama che esso godeva per lo sport, e che egli stesso era particolarmente appassionato per il nuoto. Al St. Mary's Hospital egli stava al primo posto nella lista delle borse di studio, e durante i suoi studii vinse quasi tutti i premi e le gare per borse di studio alle quali prese parte.*

Dopo la Laurea, nel 1906, *egli entrò nel Laboratorio di Sir Almroth Wright nell'Istituto di Patologia e Ricerche del St. Mary's Hospital, e lavorò sotto la sua direzione intorno agli sviluppi della vaccinoterapia. Sebbene, nel* 1909, *fosse divenuto Membro del Reale Collegio di Chirurgia, la sua passione per il lavoro di Batteriologia rimase dominante, e fu in quel tempo ancor più stimolata dalla scoperta di Ehrlich del "606", il primo antisettico relativamente atossico. Forse questo rappresenta l'inizio della ricerca del perfetto antisettico, scopo della vita di Fleming, ricerca che anche oggi egli non considera terminata. Il "606" era senza dubbio un antisettico molto imperfetto, in quanto il suo uso era limitato ad un piccolo numero di malattie, quelle causate dai batteri del gruppo delle spirochete.*

Quando nel 1914 *scoppiò la prima guerra mondiale, Fleming entrò come capitano nel Corpo Medico dell'Esercito, ed accompagnò in Francia Sir Almroth Wright. Qui la loro attività fu interamente rivolta allo studio del trattamento delle ferite infette, per il quale le condizioni di guerra fornivano, in modo paradossale, le condizioni ideali. Per tutta la durata della guerra la loro mira essenziale fu quella di trovare un antisettico non tossico realmente soddisfacente; ma una volta dopo l'altra fallirono allo scopo, o perchè l'antisettico adoperato si dimostrava tossico per l'organismo, o perchè esso era distrutto dal pus e dalle altre sostanze secrete dalla ferita. Alla fine essi si attennero al principio di non adoperare nessun antisettico, e di creare invece nella ferita le condizioni che permettessero all'organismo stesso di superare la infezione. A tale scopo, essi esercitavano sulla ferita una intensa azione derivativa per mezzo di una soluzione salina: l'effetto era l'affluire di liquidi freschi dai tessuti nell'area danneggiata, e quindi la detersione della ferita ed il trasporto dei corpi di difesa dal sangue nella ferita. Non era, questa, la soluzione*

(*N.d.R.*) La Rivista ringrazia vivamente il *British Council* per avere collaborato con la biografia di Sir Alexander Fleming ed il permesso di pubblicare — per concessione del *British Medical Bulletin* — gli articoli di Sir A. Fleming e Sir H. Florey.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.141.152.173 Mon, 29 Apr 2024, 15:18:21

ideale del problema, ma la tecnica si dimostrò di gran lunga superiore a quella precedentemente usata.

Come risultato delle sue esperienze di guerra, Fleming si formò la convinzione che gli antisettici chimici comunemente usati fossero spesso dannosi per i leucociti che attaccano i batterii di invasione, e che quindi in molti casi essi fossero più nocivi che utili.

Nel 1922 egli fece un importante passo avanti verso il perfetto antisettico quando scoprì il "lisozima": è questo un enzima antibatterico che si trova in parecchi tessuti animali e specialmente nella secrezione lacrimale, in cui assolve l'importante compito di difendere l'occhio dal grande numero di germi dell'aria. Questa sostanza è per sua natura innocua per l'organismo, ma ha la capacità di attaccare alcune varietà di batterii. Il suo uso pratico era tuttavia limitato, poichè i germi attaccati erano scarsi e non appartenenti ad un tipo molto virulento. La sua importanza essenziale consisteva nell'additare il tipo di antisettico da ricercare. Essa portò Fleming a fissare in modo definito il suo punto di vista sugli antisettici, e cioè che se il potere antileucocitario di un antisettico è maggiore del suo potere antibatterico, il suo valore terapeutico è probabilmente scarso.

Nel 1928 Fleming giunse alla maggiore scoperta, sebbene la sua vera importanza non sia stata riconosciuta per quasi quindici anni. Egli stesso ha detto che la sua scoperta della penicillina non fu del tutto accidentale, in quanto l'argomento delle sostanze battericide lo aveva sempre affascinato, e di certo la sua mente esercitata era sempre alla ricerca di fenomeni che un osservatore meno attento avrebbe probabilmente trascurato.

I fatti che portarono alla scoperta sono oggi ben noti: un giorno Fleming osservò che su una piastra di cultura contenente colonie di stafilococchi si era sviluppata una muffa, e che nella zona attorno alla muffa le colonie stesse apparivano disciolte. Caratteristico della genialità di Fleming è il non aver trascurato il fatto, ma di avere invece meticolosamente provato a trapiantare un po' di questa muffa, allora sconosciuta, fra le colonie di varii batterii. Ventiquattro ore dopo, egli osservò che lo sviluppo di un certo numero di queste colonie, e particolarmente di quelle di stafilococchi, era stato fortemente inibito nella zona attorno alla muffa. Il suo interesse fu allora immediatamente ridestato, ed egli continuò a coltivare la muffa, ottenendo da essa un liquido che trovò fornito, in molti casi, di potente azione battericida. E — ciò che era altrettanto importante — egli osservò che questo liquido antibatterico non era tossico per i leucociti, nè in alcun modo dannoso per i tessuti umani. Tutto ciò era tanto incoraggiante, che egli decise di continuare il lavoro.

Egli identificò la muffa come un Penicillio, e tentò di concentrare il liquido antibatterico da essa ottenuto. Fin dal 1930 furono eseguite delle prove cliniche di questo liquido nelle corsie del St.Mary's Hospital, ma i risultati furono poco convincenti.

Le ragioni di questo insuccesso appaiono oggi ovvie: i tentativi di concentrare il liquido erano tutti falliti, così che non era possibile usare le forti dosi che oggi si riconoscono necessarie, ed il liquido ottenuto in quel periodo, oltre che scarsamente concentrato, era molto instabile e perdeva rapidamente la sua potenza. Conseguentemente, ma sebbene Fleming non lo dimenticasse, il problema fu completamente messo da parte.

Un'altra ragione di insuccesso dello sviluppo della penicillina in questo periodo fu la scoperta, nel 1933, del preparato tedesco "Prontosil", che dimostrava una forte azione antibatterica su molti organismi patogeni, insieme con una scarsa tossicità. Partendo dal Prontosil, si giunse alla scoperta che il principio attivo era una sostanza relativamente semplice, prodotta dalla scissione del Prontosil nell'organismo; questa sostanza semplice era la solfanilamide.

L'immenso interesse suscitato da questa scoperta, insieme con le risorse della Industria mondiale dei coloranti, portò alla produzione di un gran numero di derivati dello stesso tipo, molti dei quali dimostrarono una attività superiore all'originale Prontosil o alla solfanilamide. Questi "prodotti solfonamidici", come sono complessivamente denominati, dimostrarono una grande superiorità su tutti i precedenti batteriostatici. Non desta quindi meraviglia che l'avvento di queste sostanze mettesse in ombra i risultati poco convincenti delle ricerche di Fleming sulla penicillina.

È inoltre giusto rilevare che la preparazione dei diversi derivati della solfanilamide rappresentava un processo relativamente facile mediante metodi chimici noti, e di natura completamente diversa dai molti complessi e sconosciuti processi di concentrazione del liquido ottenuto dalla muffa Penicillio.

Il clamoroso successo dei solfonamidici portò tuttavia in certo modo al loro abuso, e ciò che oggi è noto come la "luna di miele dei solfonamidici" giunse al suo termine quando si constatò come essi non fossero efficaci contro tutti i microbii, e come la loro tossicità, pur essendo bassa, non dovesse essere considerata trascurabile. Pur avendo effettivamente un immenso valore, essi non rappresentavano tuttavia la soluzione completa del problema delle infezioni.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.141.152.173 Mon, 29 Apr 2024, 15:18:21

In tutto questo periodo, Fleming conservò intatta la profonda convinzione che un giorno la penicillina avrebbe dato prova del suo immenso valore: è questa una fiducia che egli conservò sempre, fin dai suoi primi esperimenti: ed infatti egli continuò ad usare sperimentalmente la penicillina su scala ridotta, mantenendo in vita la muffa originale produttrice di penicillina come fonte di rifornimento. (È interessante ricordare come la muffa originale di Fleming sia la fonte da cui fu ottenuto il liquido penicillinico per le esperienze successive, e quella che fornì il materiale per l'isolamento del principio attivo).

Un uso interessante di impiego della penicillina durante questi anni fu la identificazione del microbio della pertosse nei bambini ritenuti affetti da questa malattia. L'isolamento di questo microbio era sempre stato difficile perchè esso è molto delicato e quindi frequentemente sopraffatto da altre colonie microbiche: con l'uso della penicillina fu possibile distruggere questi altri microbi, ed isolare quello della pertosse, se presente. Questa tecnica rese molto più sicura la diagnosi, e quindi la profilassi della malattia.

Nel 1939 il prof. Florey, della Scuola di Patologia Sir William Dunn di Oxford, particolarmente preoccupato della oscura situazione internazionale, che rendeva possibile una nuova guerra mondiale inevitabilmente associata ai problemi delle infezioni, decise di studiare sistematicamente tutte le sostanze capaci di distruggere i microbii. Dalla letteratura su tali sostanze, Florey ed i suoi collaboratori scelsero la penicillina come il più promettente oggetto delle loro ricerche, e si rivolsero ad essa sopratutto a causa della sua già dimostrata capacità di distruggere gli stafilococchi, non attaccati dai solfonamidici. Lo sviluppo finale della penicillina, la sua concentrazione e la sua produzione su vasta scala formano oggetto di una lunga storia: per valutare imparzialmente questo grande sforzo, bisognerà aspettare alcuni anni.

Non sono ancora note tutte le possibilità terapeutiche della penicillina, ma essa può già con ogni probabilità esser considerata come la più grande fonte di salvezza di vite umane nella storia della Medicina. È tuttavia necessaria una riserva: anche la penicillina non è una panacea, e non si deve quindi interrompere la ricerca di sostanze ancora più efficaci. Possiamo essere sicuri che Fleming ed i suoi illustri collaboratori, che hanno dato al mondo la penicillina, sappiano molto bene tutto ciò: il perfezionamento della penicillina rappresenta solo una tappa nella interminabile lotta contro le malattie.

THE BRITISH COUNCIL
ROMA

LA SCOPERTA DELLA PENICILLINA

Mi è stato chiesto di dire come giunsi alla scoperta della penicillina. È molto difficile, dopo un periodo di quindici anni ricordare esattamente quale successione di idee portò alla scoperta, e mi sembra opportuno tornare molto più indietro del 1928, anno in cui fu osservata per la prima volta l'azione della penicillina.

Ricerche precedenti. — Come allievo di Sir Almroth Wright io fui naturalmente portato ad interessarmi a fondo, durante tutta la mia carriera, della distruzione dei batteri per opera dei leucociti. Durante la guerra 1914-18 dedicai molto tempo allo studio delle questioni inerenti alle ferite settiche ed allora la mia attenzione fu colpita dal potere antibatterico dei leucociti contenuti nel pus essudato dalle ferite infette. Inoltre da queste ricerche risultò chiaramente che gli antisettici comunemente usati erano più dannosi per i leucociti che per i batteri. Negli anni del dopoguerra continuai ad interessarmi degli antisettici e dei leucociti e nel 1924 potei dimostrare chiaramente con un metodo semplice, il potere antileucocitario degli antisettici, e stabilire che se l'azione antileucocitaria di un antisettico era maggiore della sua azione antibatterica, era impro-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.141.152.173 Mon, 29 Apr 2024, 15:18:21

babile che lo si potesse adoperare con successo nel trattamento di una ferita settica.

Nel 1922 io descrissi il lisozima, un potente fermento antibatterico che si trova in natura nei tessuti e nelle secrezioni umane, nel bianco d'uovo di gallina e altrove.

Effetto dell'inquinamento di una cultura di germi. — Nel settembre 1928 io stavo studiando le variazioni delle colonie di stafilococco, in seguito ad una pubblicazione del prof. Bigger, il quale aveva dimostrato che da una cultura pura di un comune stafilococco piogeno possono originarsi colonie di aspetto molto diverso. Nel corso di queste osservazioni le piastre di cultura di stafilococco venivano esaminate ad intervalli con un microscopio da dissezione ciò che implicava un temporaneo allontanamento del coperchio e l'esposizione della cultura all'inquinamento da parte dell'aria. Dopo l'esame, alcune piastre di cultura venivano messe in termostato, ed altre erano lasciate sviluppare a temperatura ambiente. In un esame successivo, in una di queste ultime, si osservò che verso il margine della piastra si era sviluppata una colonia di muffa. In queste circostanze un inquinamento con una muffa non era inaspettato, ma il fatto sorprendente era che in questa particolare piastra le colonie di stafilococco per una considerevole distanza intorno alla muffa stavano subendo una lisi evidente. Ciò che originariamente era stata una colonia di stafilococchi ben sviluppata, era ora una tenue ombra di sè stessa.

È certo che ogni batteriologo ha avuto non una, ma parecchie volte, piastre di cultura inquinate da muffe. È anche probabile che alcuni batteriologi abbiano osservato alterazioni simili a quelle anzidette, ma che non interessandosi in modo speciale alle sostanze antibatteriche esistenti in natura, essi abbiano semplicemente scartato le culture. Fu quindi un caso fortunato che in base a quanto ho brevemente accennato, io fossi sempre con l'attenzione desta per nuovi inibitori batterici, e che quando io notai in una piastra di cultura che le colonie di stafilococco nelle vicinanze di una muffa erano scomparsi, io fossi così interessato nella sostanza antibatterica prodotta dalla muffa, da proseguirne lo studio.

Osservazioni sperimentali. — Il passo successivo fu quello di toccare la colonia della muffa con un filo di platino, e di trasportare alcune spore in una provetta con terreno di Sabouraud, che per il comune batteriologo, è il terreno di cultura abituale per le muffe. È interessante che fino a poco tempo fa tutta la penicillina usata clinicamente sia stata prodotta dalle subculture di questo tubo originale. Questa prima cultura pura di muffa non ha sopravvissuto per questi anni, mentre esiste ancora la piastra originale con la colonia di muffa che ha prodotto la lisi delle colonie di stafilococco. L'aver conservato questa cultura dimostra come, pur essendo incapace di concentrare la sostanza antisettica in modo sufficiente all'uso terapeutico, io la considerassi sin d'allora come qualcosa di memorabile. Ottenuta una cultura pura, la seminai nel comune brodo nutritivo usato dai batteriologi. Essa crebbe in superficie come una massa feltrata. Dopo

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.141.152.173 Mon, 29 Apr 2024, 15:18:21

una settimana, il liquido di cultura, diluito 500-800 volte, inibiva completamente lo sviluppo dello stafilococco, e quindi sotto questo riguardo, era circa 2-3 volte più potente dell'acido fenico puro. Era da ciò evidente come la sostanza antibatterica prodotta dalla muffa fosse qualcosa di veramente notevole e tale da richiedere ulteriori ricerche.

La muffa apparteneva al genere *Penicillium* cosicchè alla sostanza attiva, la cui costituzione chimica era allora sconosciuta, (e lo è tutt'oggi nel momento in cui scrivo) (1) fu dato il nome di « Penicillina ». La muffa fu successivamente identificata come *Penicillium notatum,* una specie trovata da Westling nell'issopo guasto, in Norvegia (Thom).

Dall'aspetto della piastra originale era evidente come la penicillina fosse rapidamente diffusibile nell'agar, appunto come il lisozima da me studiato circa 6 anni prima. La tecnica che avevamo usata per il lisozima era applicabile alla penicillina.

Un metodo usato e illustrato nel mio lavoro originale consisteva nell'asportare una striscia di agar dalla piastra di cultura, nel seminare diverse specie batteriche in striscie perpendicolari al solco così formato e quindi di riempire quest'ultimo con agar mescolato a penicillina. La sostanza attiva diffondeva nell'agar, e inibiva lo sviluppo dei differenti batteri per una distanza variabile a seconda della loro sensibilità alla penicillina. Alcuni batteri, quali il *B.coli* oppure l'*H.influenzae,* non erano inibiti affatto, mentre altri, quali lo *Staphylococcus, Streptococcus, Pneumococcus, Gonococcus* ed il bacillo difterico non si sviluppavano in prossimità della striscia di penicillina. Era quindi evidente che la penicillina aveva un'azione specifica su alcuni batteri mentre non agiva su altri, ed è interessante che i batteri inizialmente dimostratisi in tal modo sensibili al liquido grezzo di cultura, siano gli stessi che successivamente si dimostrarono sensibili alla penicillina concentrata usata clinicamente.

In considerazione dei risultati da me precedentemente ottenuti con gli antisettici chimici di uso comune, io ricercai se, come questi, la penicillina fosse tossica per i leucociti umani. Essa non aveva effetto tossico, e neppure si dimostrava tossica quando veniva iniettata negli animali.

Conclusioni. — Noi avevamo quindi a disposizione una sostanza antisettica fino a questo momento unica per il suo forte effetto inibitorio su molti dei comuni batteri che infettano il corpo umano, ma non tossica per gli animali o per i leucociti umani. Sfortunatamente si trattava di una sostanza molto instabile, ed i primi tentativi per concentrarla ebbero scarso successo. Sebbene fossero state fatte, con risultati modesti, alcune osservazioni sperimentali sulla azione antisettica locale del liquido grezzo, la instabilità della sostanza e lo scarso numero di casi settici disponibili in ospedale, in tempo di pace, impedirono che l'uso clinico fosse proseguito seriamente.

---

(1) La composizione chimica della penicillina è stata recentemente stabilita, vedi pag. 128.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.141.152.173 Mon, 29 Apr 2024, 15:18:21

I risultati di laboratorio, insieme con le poche osservazioni cliniche mi indussero tuttavia ad affermare nel riassunto del mio lavoro originale del 1929 che: « *La penicillina può essere un antisettico efficace per applicazione o per iniezione nelle zone infette con microbi sensibili alla penicillina* » e in un articolo del 1931 sull'uso degli antisettici: « *È molto probabile che essa o una sostanza chimica di natura simile, sarà usata nel trattamento delle ferite settiche* ».

Le parole « una sostanza chimica di natura simile » furono suggerite dal pensiero che un giorno un chimico avrebbe scoperto la natura del principio attivo, lo avrebbe sintetizzato ed avrebbe adoperato tale principio o una qualche sua modificazione come un agente chemioterapico. Ciò accadeva alcuni anni prima della introduzione dei solfonamidici, e in un'epoca in cui l'unica chemioterapia antibatterica efficace era rappresentata dal trattamento della sifilide con le modificazioni del salvarsan di Ehrlich.

Io ho usato la penicillina costantemente sin dal 1929 per differenziare le culture, ma il suo uso a scopi terapeutici pratici non fu attuato finchè i ricercatori di Oxford non iniziarono le loro ricerche.

SIR ALEXANDER FLEMING M. B. F. R. C. S., F. R. S. -
Inoc ulation Departement, St. Mary's Hospital, London.