

Des moisissures à la pénicilline

Quelques "prélèvements"
dans la "colonie" des précurseurs *



par C. ROUSSEL, F. VIAL, G. HEYMANS, R. RULLIÈRE **

RESUME

Fleming disait volontiers que la pénicilline a toujours existé, pressentie d'abord par l'empirisme populaire qui, de tout temps, fait état de l'action bénéfique des produits moisissés ou fermentés. C'est ensuite la notion de concurrence vitale énoncée par Darwin, confirmée par Pasteur, Lister et Tyndall, qui conduisit à de multiples expériences dans toute l'Europe du XIX^e siècle, montrant l'action de levures ou de pénicillium contre divers microbes. Ernest Duchesne reste le précurseur français le plus marquant de cette époque. Mais il fallut attendre Gratia et Dath en 1924 et Fleming en 1929 pour mettre en évidence la toxine responsable mais trop instable. L'application de la lyophilisation permit enfin à Florey et Chain en 1939 la stabilisation de la pénicilline, puis sa production industrielle à partir de 1942. L'extraordinaire activité thérapeutique de cet antibiotique valut le prix Nobel de médecine en 1945 à Fleming, Florey et Chain.

Le 4 septembre 1945, Sir Alexander Fleming déclarait à Paris dans son discours de réception à l'Académie de médecine : « J'ai été accusé d'avoir inventé la pénicilline. Aucun homme n'aurait pu inventer la pénicilline car elle a été produite, de temps immémorial, par la nature et par une certaine moisissure (17). » Quelques « prélèvements » systématiques dans la « colonie » des précurseurs de Fleming confirment aisément la pertinence de ce propos.

* Communication présentée à la Société française d'histoire de la médecine dans sa séance du 24 janvier 1981.

** Chaire d'histoire de la médecine, Paris-VI.

Ces « prélèvements » seront orientés selon trois axes : empirisme populaire, principe de concurrence vitale appliqué à l'antagonisme entre les moisissures et les microbes, expérimentations multiples à partir de 1852, puis isolément, conservation et production de la pénicilline de 1924 à 1942.

L'empirisme populaire

Une tradition, consacrée sur tous les continents et à toutes les époques, fait état de l'application ou de l'absorption de produits moisissus ou fermentés (2 ; 4 ; 16).

1) Pansements des plaies à l'aide de moisissures prélevées sur les harnais des animaux de bât chez les Arabes, ou dans les ossuaires sur les crânes des criminels exécutés (d'après Parkinson en 1640), ou sur la mousse des toits dans le Hainaut (d'après Cachera).

2) Application de cataplasmes : de champignons d'après Pliny l'Ancien, ou de mie de pain et de farine moisissus dans la Chine ancienne, ou de bois pourri sur les blessures par incisions rituelles initiatiques chez les Indiens du Canada d'après Brunel, ou de pain de seigne moisi malaxé et mouillé d'après Cliffe en 1908.

3) Absorption de produits moisissus tels que croûtes de fromage, farine gâtée, pain moisi qui, associés à un enfouissement de huit jours dans du fumier, assurèrent en 1709 la guérison du jeune berger champenois Valentin Jamerais-Duval, devenu plus tard professeur d'histoire à Lunéville (4).

Le principe de concurrence vitale et son application à l'antagonisme entre les moisissures et les microbes

1) La notion de *concurrence vitale* semble avoir été entrevue dès l'Antiquité :

- par Héraclite qui soutenait la théorie de la transformation des substances par la fermentation et qui, très âgé et malade, se fit enfouir dans du fumier, sans succès d'ailleurs, à Ephèse en 450 av. J.-C. (4) ;
- par Thucydide qui signala la disparition des autres atteintes morbides pendant une épidémie en Attique (Creuze), condition qui fut à nouveau constatée au cours des épidémies de peste du Moyen Âge ainsi que par Boudin en 1843 et Guyot en 1851.

2) C'est à Darwin, en 1872, que revient, en tant que loi fondamentale, la notion de « concurrence vitale », véritable combat universel entre les espèces vivantes qui « préside non seulement à la création des espèces mais encore à leur conservation ; il faut s'attendre à la retrouver dans toute la série des êtres organisés, c'est la lutte pour l'existence dans la nature ».

3) C'est à Pasteur et Joubert (19), le 16 juillet 1877, que l'on doit la première démonstration du principe de concurrence vitale sur les micro-orga-

nismes à propos de la bactériodie charbonneuse qui « ... ne se développe pas si on la met en présence de bactéries communes... c'est la lutte pour la vie entre l'organisme charbonneux et ses congénères... La vie empêche la vie ».

4) Cependant Lister, 6 ans auparavant, avait déjà, dans son expérience du 25 novembre 1871 (15), entrevu l'antagonisme entre les moisissures et les bactéries. Il constatait que la présence d'une masse feutrée de *pénicillium glaucum* à la surface du tube « rendait les bactéries complètement immobiles et languides ».

5) John Tyndall, lui aussi avant Pasteur, le 13 janvier 1876 (26), concluait d'une série d'expériences : « Il y a lutte pour l'existence entre bactérie et *pénicillium*. Dans certains tubes le premier triomphe, c'est le second dans d'autres tubes du même mélange. »

6) Quant au terme d'antibiose et d'antibiotique, c'est Vuillemin qui, en 1889, le définit ainsi : « Quand deux corps vivants s'unissent intimement et que l'un d'eux exerce une action destructrice sur une portion plus ou moins étendue de l'autre, on peut dire qu'il y a antibiose (28).

Dès 1852, dans toute l'Europe, de nombreuses publications font état de l'action des moisissures contre les microbes

Nous nous bornerons à citer celles mettant en œuvre levures ou *pénicillium* (a) :

- 1) *Publications concernant l'action des levures dans certaines affections* (16) :
 - la furonculose, par Mosse en 1852 (29) ;
 - le charbon : Pawlowsky, 1887 ;
 - la fièvre typhoïde : Heer, 1888 ; d'Arsonval et Charrin, 1893 ;
 - le charbon et les affections pyocyaniques : les mêmes en 1893, ainsi que Boinet et Roserer, 1890 ;
 - la diphtérie : De Backer et Bruhat en 1893 signalent une guérison par injection locale de mycoderme.

Ainsi, dès 1874, Bertillon, mycologue de renom, pouvait-il écrire dans un dictionnaire médical encyclopédique paru chez *Masson* : « Quand nous connaissons mieux ces parasites, il ne sera probablement pas impossible de les obliger à nous servir... Ne pouvons-nous pas cultiver et utiliser ces ennemis de nos ennemis ? » (6.)

- 2) *Publications concernant l'action du *pénicillium* contre les microbes* :

A la suite de Tyndall, le *pénicillium glaucum* s'avéra in vitro un antagoniste (20 ; 21) :

- des streptocoques et staphylocoques pour Stoos, 1893 ;

- du bacille typhique et du vibron cholérique pour Tiberio, 1895, médecin de marine italien ;
- de divers germes pour Gosio, 1896 ;
- du bacille d'Eberth et du bacterium coli communis pour Ernest Duchesne (9 ; 13 ; 14 ; 22 ; 23). Dans sa thèse de médecine soutenue à Lyon le 17 décembre 1897 et inspirée par Gabriel Roux, Directeur du bureau municipal d'hygiène, cet élève de l'Ecole du service de santé militaire eut le mérite de développer une expérimentation cohérente sur l'air atmosphérique et l'eau de la Compagnie du Rhône. Il constata aussi la survie de deux cobayes inoculés par deux centimètres cube d'un mélange de pénicillium glaucum avec du coli pour le premier et du bacille d'Eberth pour le second.

Certes, les conclusions de Duchesne, excellemment formulées, apparaissent « prophétiques » mais avaient, comme nous l'avons vu, déjà été énoncées antérieurement sans que l'auteur semble en avoir eu connaissance, si l'on en croit la modeste bibliographie de sa thèse qui clôt le XIX^e siècle sur le sujet.

Dans les premières années du XX^e siècle, on continua d'étudier l'action du pénicillium glaucum contre la bactérie charbonneuse pour Sturli en 1908, contre le bacille tuberculeux en 1910 et 1912 pour Rappin à Nantes et Vaudremer à l'Institut Pasteur de Paris, qui s'accusèrent mutuellement et à tort de plagiat, et enfin pour Creuze en 1910 avec un pénicillium crustaceum contre le bacille de Koch et en 1916 avec un pénicillium glaucum sur des germes variés. Ces recherches allaient conduire en 1923 à la bactériolyso-vaccinothérapie.

De 1924 à 1929, la recherche de la substance active sécrétée par le pénicillium va conduire à la découverte de la pénicilline

Il faut attendre 1924 pour que les auteurs renoncent à l'explication unique des faits observés par le phénomène de compétition.

1) En 1924 en effet, les Belges Gratia et Dath (12) comprennent les premiers qu'il faut chercher l'action d'une toxine. Ils préparent à cet effet un filtrat et un broyat de streptothrix et de pénicillium avec lequel ils obtiennent facilement la mycolyse du streptocoque, du pneumocoque, du bacille de Klebs-Löffler, de Bordet-Gengou, et du gonocoque avec Jaumain. Tous trois établissent également l'innocuité chez l'animal des fortes doses de mycolysats et obtiennent chez l'homme, dès 1930, de bons résultats en association avec du bactériophage (16) dans les staphylococcies même rebelles avec « un effet rapide et constant, inoffensif, non douloureux et d'application facile ».

2) En 1929, Alexander Fleming (10) démontre la diffusion dans la gélose du principe actif de la culture pure de pénicillium notatum (*b*). Cette substance est la pénicilline. Elle est active contre presque tous les germes qui prennent la coloration de Gram ainsi que sur l'escherichia coli. Mais elle est

instable et le restera pendant plus de 10 ans, d'où échecs successifs (c) et indifférence (d) de l'opinion scientifique (16).

3) Il faudra attendre 1939 pour que Florey, Chain et Heathley (11) appliquent au liquide de culture la lyophilisation découverte en 1935, de façon à obtenir un résidu sec dissous dans le méthanol, dilué dans l'eau, relyophilisé sous basse température et de pH neutre. La pénicilline en poudre ainsi obtenue fut expérimentée sur la souris à partir du 25 mai 1940. Le premier passage à l'homme fut appliqué dès février 1941 chez un agent de police en pleine septicémie qui, après une amélioration, décéda par manque de produit (16).

4) C'est à Peoria, dans l'Illinois, que Florey, Heathley et Thom mirent au point, avec l'aide de Coghill, dans le Northern Regional Research Laboratory, la fabrication industrielle de la pénicilline. Ils durent vaincre deux principaux obstacles techniques (16) :

- l'épuisement de la culture initiale de Fleming, heureusement remplacée dès 1943 par du *pénicillium chrysogenum* prélevé sur un melon pourri acheté au marché local et qui se révélera un remarquable producteur de pénicilline ;
- et la recherche d'un milieu de culture économique et permettant le développement du mycelium en profondeur. Il sera à base de liqueur du trempage du maïs (e) et de lactose.

5) En 1942, les premiers essais thérapeutiques couronnés de succès concernent des affections diverses sur des pilotes de la R.A.F., mais aussi une septicopyohémie à streptocoques sur fractures de jambe traitée au Caire et en août 1942 une méningite à streptocoques chez un ami de Fleming (17).

6) Le 7 décembre 1945 le prix Nobel de médecine fut remis à Fleming, à Florey et à Chain, par division en tiers.

Conclusion

Cette revue chronologique des précurseurs de Fleming conduit à souligner plusieurs notions :

1) D'abord, l'ancienneté du pressentiment que les moisissures sont et seront actives dans la lutte contre les infections.

2) Ensuite, la notion de concurrence vitale qui, au XIX^e siècle, a permis à de nombreux auteurs de constater l'activité antimicrobienne de certaines variétés de *pénicillium* mais qui, en réduisant le problème à un effet de compétition, s'est limité de lui-même.

3) Enfin, l'irrésistible ascension de la pénicilline isolée en 1929, stabilisée en 1939, fabriquée et utilisée à partir de 1942.

*
**

Faut-il mettre en avant l'un ou l'autre parmi la vaste colonie des précurseurs ? Laissons Fleming lui-même effectuer ce choix en citant deux anecdotes rapportées par A. Maurois (17) qui travailla sur les papiers et les travaux du savant mis à sa disposition par Lady Fleming et par Robert Fleming, tout en s'entourant des conseils de Robert Debré, de Georges Portman et d'Albert Delaunay.

Dans cette perspective, deux noms émergent : Pasteur et Lister.

1) Pasteur, parce que le 5 septembre 1945, au cours d'un dîner à Paris, en réponse à un propos laudatif de Georges Duhamel, Fleming protesta (17 - p. 229) : « Je ne suis rien sans Pasteur » ; et dans une autre occasion : « Pasteur était un génie. Il observait les choses et, ce qui est plus, il mesurait leur valeur et voyait ce qu'elles signifiaient. Une expérience de Pasteur était si décisive qu'elle en valait cent. La preuve en est qu'il pouvait toujours la répéter avec succès » (17 - p. 248).

2) Lister, parce que, lors de sa réception d'une médaille d'or par Lord Webb Johnson, président du Royal College of Surgeons (17 - p. 137), Fleming, au vu des notes de travail de Lister (15), répondit de façon circonstanciée :

« Il est bien dommage que cette expérience de novembre 1871 n'ait pas abouti. Lister a eu l'idée de la pénicilline, mais il a cultivé la mauvaise moisissure, ou la mauvaise bactérie, ou les deux. Si le sort avait été bienveillant pour lui, l'histoire de la médecine aurait été changée et Lister aurait vu, de son vivant, ce qu'il avait toujours cherché : un antiseptique non toxique.

« Dès le temps de Pasteur et de Lister, des chercheurs essayaient de tuer un microbe par un autre. L'idée était là ; l'exécution a dû attendre le jour où la fortune a décidé que la spore d'une moisissure contaminerait une de mes cultures puis, quelques années plus tard, un autre jour, celui où des chimistes se sont mis à travailler sur les produits de cette moisissure pour nous donner la pénicilline pure.

« Lister aurait certes été heureux si telle chose lui était arrivée. »

Nul ne pouvait mieux conclure cette revue sur la chaîne des précurseurs de la pénicilline que Fleming lui-même qui, avec Florey et Chain, en constitua l'ultime et décisif maillon.

*
**

(Nous exprimons des remerciements au Médecin-Général Lefebvre et au Médecin-Général Favre pour nous avoir aimablement facilité l'accès à la documentation du musée du Val-de-Grâce concernant Duchesne : ainsi qu'à Mme le Docteur Giuseppina Berti Bock pour nous avoir communiqué les travaux du Professeur Premuda, de Padoue, concernant les précurseurs italiens de la pénicilline.)

The same absence of uniformity was manifested in the struggle for existence between the *Bacteria* and the *Penicillium*. In some tubes the former were triumphant; in other tubes of the same infusion the latter was triumphant. It would also seem that a want of uniformity as regards *vital vigour* prevailed. With the selfsame infusion the motions of the *Bacteria* in some tubes were exceedingly languid; while in other tubes the motions resembled a rain of projectiles, being so rapid and violent as to be followed with difficulty by the eye. Reflecting on the whole of this, I conclude that the germs float through the atmosphere in groups or clouds, and that now and then a cloud specifically different from the prevalent ones is wafted through the air. The touching of

Fig. 1. — Tyndall, 1876 (26).

que les longs filaments qui la composent remplissent le liquide d'un feutrage d'aspect cotonneux ; mais si, au moment de déposer dans l'urine les bactériidies à titre de semence, on sème en outre un organisme aérobie, par exemple une des bactéries communes, la bactériidie charbonneuse ne se développe pas ou très-peu, et elle périt entièrement après un temps plus ou moins long. Chose bien remarquable, ce même phénomène se passe dans le corps des animaux qui sont le plus aptes à contracter le charbon et l'on arrive à ce résultat surprenant qu'on peut introduire à profusion dans un animal la bactériidie charbonneuse sans que celui-ci contracte le charbon : il suffit qu'au liquide qui tient en suspension la bactériidie on ait associé en même temps des bactéries communes. Tous ces faits autorisent peut-être les plus grandes espérances au point de vue thérapeutique. Présentement ils suggèrent une explication physiologique du fait si remarquable que parmi les espèces animales il en est qui ne contractent jamais la maladie charbonneuse.

» La lutte pour la vie entre l'organisme charbonneux et ses congénères, si manifeste dans les expériences que j'ai citées tout à l'heure, va jeter de nouvelles lumières sur le sujet qui nous occupe.

Fig. 2. — Pasteur, 1877 (19).

IV. *Les Moisissures*, cependant, peuvent parfois voir cette luite tourner à leur profit lorsque le milieu de culture leur est, par sa réaction, plus nettement favorable qu'aux bactéries, qu'elles ne s'y trouvent pas absolument submergées et qu'elles sont enfin, initialement, en proportion vraiment très prépondérante.

V. Il semble, d'autre part, résulter de quelques-unes de nos expériences, malheureusement trop peu nombreuses et qu'il importera de répéter à nouveau et de contrôler, que certaines *moisissures* (*Penicillum glaucum*), inoculées à un animal en même temps que des cultures très virulentes de quelques *microbes pathogènes* (*B. coli* et *B. typhosus* d'Eberth), sont capables d'atténuer dans de très notables proportions la virulence de ces cultures bactériennes.

VI. On peut donc espérer qu'en poursuivant l'étude des faits de *concurrence biologique* entre *moisissures* et *microbes*, étude seulement ébauchée par nous et à laquelle nous n'avons d'autre prétention que d'avoir apporté ici une très modeste contribution, on arrivera, peut-être, à la découverte d'autres faits directement utiles et applicables à l'hygiène prophylactique et à la thérapeutique.

LE PRÉSIDENT DE THÈSE,
LÉPINE

Vu : POUR LE DOYEN,
L'ASSESEUR,
LÉPINE

Permis d'imprimer :
LE RECTEUR,
G. COMPAYRÉ

Fig. 3. — Duchesne, 1897 (9).

« On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenza » by A. FLEMING, F.R.C.S. from the Laboratories of the Inoculation Department, St Mary's Hospital, London. May 10th 1929.

« While working with staphylococcus variants a number of culture-plates were set aside on the laboratory bench and examined from time to time. In the examinations these plates were necessarily exposed to the air and they became contaminated with various micro-organisms. It was noticed that around a large colony of a contaminating mould the staphylococcus colonies became transparent and were obviously undergoing lysis.

Subcultures of this mould were made and experiments conducted with a view to ascertaining something of the properties of the bacteriolytic substance which had evidently been formed in the mould culture and which had diffused into the surrounding medium. It was found that broth in which the mould had been grown at room temperature for one or two weeks had acquired marked inhibitory, bactericidal and bacteriolytic properties to many of the more common pathogenic bacteria. »

Fig. 4. — Fleming, 1929 (10).

NOTES

a) C'est le mycologue Link qui, à partir de 1810, utilisa pour désigner une moisissure filamenteuse dont les ramifications forment un petit pinceau, le mot « pénicillum », qu'il modifia en « pénicillium » et dont il décrivit plusieurs espèces du genre, en particulier pénicillium glaucum (6).

b) Le pénicillium notatum avait été identifié par Westling en 1912.

c) Echouèrent successivement dans l'isolement de la pénicilline (17) : Crappock et Ridley en 1929, Raistrick, Clutter Buck et Lovell en 1930, Compton en 1933 et Holt en 1934.

d) Au 2^e Congrès international de biologie, notamment, en 1936 (17).

e) Corn steep liquor.

BIBLIOGRAPHIE

1. ARSONVAL (d') et CHARRIN A. — « Concurrence vitale entre le bacille pyocyanique et la levure de bière », Soc. Biol. 1893.
2. BARIETY M. et COURY C. — « Histoire de la médecine », 1 vol., Masson.
3. BRUN C. — « Les précurseurs dans le domaine des antibiotiques », *Press. Méd.* 49, 1949, juillet 30.

4. CACHERA A. — « Les antibiotiques avant leur découverte », *Sem. Méd.* n° 17, 1956, p. 596.
5. CHAIN E.B. — « Penicillin as a chemotherapeutic agent », *Lancet* 1940, 2, 226.
6. CHAUVELOT R. — « Un vétéran de la langue médico-chirurgicale : pénicillium », *Press. Méd.* 58, 1950, 12, p. 209.
7. CHARRIN A. — « La concurrence vitale en bactériologie », *Sem. Méd.*, 1892, mars.
8. DERUDDER P. — « De la concurrence vitale à la découverte de Fleming », Thèse Paris, 1955.
9. DUCHESNE E. — « Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes, antagonisme entre les moisissures et les microbes », Thèse méd. Lyon, 1897.
10. FLEMING A. — « On the antibacterial action of cultures of a penicillium », *Brit. J. exp. path.* 1929, 10, 226.
11. FLOREY H.W., CHAIN E.B. and HEATLEY N.G. — « Penicillin as a therapeutic agent », *The Lancet*, 249, 2, 1940.
12. GRATIA et DATH. — *C.R. Soc. Biol.*, 1924, 91, 1 442 ; 1925, 92, 461 ; 1931, 106, 1 288.
13. HASSENFORDER J.J. — « Le médecin-major 2^e classe Duchesne, précurseur français de l'action antibiotique de certaines moisissures », *Hist. méd.*, mai 1951, p. 38-39.
14. HASSENFORDER J.J. — « Histoire des origines de la découverte de l'action antibiotique du pénicillium : un précurseur lyonnais, Gabriel Roux », *Hist. méd.* av. 1957, p. 35-39.
15. LISTER J. — « Common place books 25 nov. 1871, in annals of the Royal College of Surgeons », 6, fev. 1950.
16. MAINGUY P. — « Recherches historiques sur la concurrence vitale entre les micro-organismes », Thèse, Paris, 1949.
17. MAUROIS A. — « La vie de Sir Alexander Fleming », 1 vol., Hachette 1959 (1881-1955).
18. PARIS R. — « De la thériaque aux antibiotiques ».
19. PASTEUR L. et JOUBERT. — « Charbon et septicémie », *Bull. Ac. Sc.* 3, 1877, p. 101 115, 781 à 797 et 921 à 926.
20. PEZZI G. — « Vincenzo Tiberio e la scoperta degli antibiotici », *Au Med Nav. Trop.* 1955, p. 101.
21. PREMUDA L. — « Breve Storia del antibiosi », *Rassegna Giuliana di Medicina*, 11, 1955, p. 3.
22. ROUX G. — « Précis d'analyse microbiologique des eaux », Paris, 1892.
23. SALLE M. — « Ernest Duchesne, un précurseur lyonnais de l'action antibiotique du pénicillium », Thèse Lyon, 1974.
24. THEODORIDES J. — « Un précurseur de l'antibiothérapie, Louis Poumayrol », *Hist. méd.* 1959, p. 81.
25. TIBERIO V. — « Sugli estratti di alcune muffe », *Ann. Ig. Sper.* 5, 1895, p. 91.
26. TYNDALL J. — « The optical deportment of the atmosphere in relation to the phenomena of putrefaction and infection », *Phil. Trans.* 166, 1876, p. 27.
27. VAUDREMER A. — « Action de quelques microbes sur la tuberculine », *An. Inst. Pasteur*, 24, 1910, 189.
28. VUILLEMIN P.J. — *Assoc. Franç. Avanc. Sci.* 1889, p. 525-543.
29. MOSSE J.R. — « Of the use of yeast in the treatment of boils », *The Lancet* 1852, vol. 2, p. 113.