

# Difficultés d'industrialisation de la pénicilline (1928-1942) (Alexander Fleming, Howard Florey, Ernst Boris Chain) \*

par Armand NOTTER \*\*

La révolution thérapeutique représentée par l'apparition des sulfamides et surtout de la pénicilline a été précédée d'une très longue recherche. Alexander Fleming a été en 1928 incontestablement l'homme de la pénicilline.

Il faut cependant rappeler qu'en 1897 un précurseur lyonnais avait déjà attiré l'attention sur l'antagonisme qui existait entre les moisissures et les microbes. En effet, le 17 décembre 1897, à la Faculté de Médecine de Lyon, Ernest Duchesne, élève de l'Ecole du Service de Santé Militaire avait soutenu une thèse intitulée : "*Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes, antagonisme entre les moisissures et les microbes*".

Malheureusement, le pénicillium n'étant pas offensif vis-à-vis du bacille typhique, le professeur Gabriel Roux, directeur du Bureau d'Hygiène de la ville de Lyon, ne poursuivit pas la recherche.

Aymé Camelin en 1958 suppose que Gabriel Roux "était trop oublié dans sa propre ville pour que l'on apporte du crédit à sa recherche sur les moisissures".

Voici en effet reproduits les deux derniers paragraphes de la thèse d'Ernest Duchesne :

*"Il semble, d'autre part résulter de quelques-unes de nos expériences malheureusement peu nombreuses et qu'il importera de répéter à nouveau et de contrôler que certaines moisissures *Penicillium glaucum* inoculé 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.*

---

(\*) Communication présentée à la séance du 23 juin 1990 de la Société française d'Histoire de la Médecine.

(\*\*) 160, rue Pierre Valdo, 69005 Lyon.

*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'aurons d'autres prétentions 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".*

Ainsi, Ernest Duchesne avait-il présenté l'antagonisme entre moisissures et microbes mais surtout laissait-il entendre que d'autres recherches pourraient aboutir à une nouvelle hygiène prophylactique et thérapeutique.

Ces recherches allaient être entreprises trente-et-un ans plus tard par un écossais, Alexander Fleming, dans un laboratoire clinique de Londres.

### **I - Alexander Fleming**

Alexander Fleming était écossais. A l'âge de douze ans, il fut inscrit à l'Académie de Kilmarnock. Cette Académie était une excellente école, avec examens fréquents qui tenaient les élèves en alerte. Il étudia surtout les sciences. Soulignons l'importance que sa famille de fermiers attachait à l'éducation des enfants.

Un des enfants Fleming, Tom, était arrivé à être médecin à Londres et avait été orienté vers l'ophtalmologie. C'est chez ce frère, Tom, qu'Alex Fleming et son dernier frère, Robert, suivent alors les cours de la Polytechnic School dans Regent Street. Alexander avait été placé dans la classe de son âge mais on lui fit, au bout de quinze jours, sauter quatre classes de sorte qu'il se trouva bien plus jeune que ses camarades.

Il atteignait vingt ans quand lui échut l'héritage de l'oncle John après qu'il eut accepté un poste d'employé dans l'*American Line*, métier qu'il exerça sans l'aimer. Il put donc prendre ses inscriptions pour les études de médecine.

Les études médicales étaient organisées au petit bonheur à Londres où s'était installée une Ecole de médecine bien avant la création de l'Université. Lorsque l'Université fut fondée, les Facultés de Médecine des Hôpitaux en firent partie. Fleming devait donc passer un examen avant d'entrer dans une Ecole de Médecine. On pouvait craindre qu'un jeune employé de bureau qui depuis cinq ans avait cessé toute étude ne fut pas en état d'affronter une médecine assez difficile. Fleming démontra qu'il avait profité de sa formation de base due à la petite école des landes d'Ecosse pour assimiler facilement les nouvelles leçons. Il fut reçu premier de tout le Royaume-Uni en juillet 1901.

Avec ce certificat, il pouvait choisir une Ecole médicale. Il choisit Saint-Marys.

Après une année d'instruction théorique brillante, Fleming apprend les urgences et continue la médecine pratique par les visites à domicile. C'est ainsi qu'il passe son premier examen de chirurgie. Un jeune médecin, Freeman, le convainquit alors paradoxalement d'entrer dans un service de bactériologie sous la férule de Wright.

### **II - Fleming dans le laboratoire de Wright**

Le laboratoire de recherches d'Almroth Wright portait le nom d'*Inoculation Department*.

Cet *Inoculation Department* qui avait commencé son existence en 1902 se composait à l'arrivée de Fleming de deux salles exiguës, l'une pour le professeur et ses assistants,

l'autre pour la réception des malades envoyés par les autres services de l'hôpital en cas d'infections.

Ce laboratoire ne subsistait que grâce à la générosité de Wright qui avait une énorme et riche clientèle et insistait pour que ses assistants conservent une clientèle privée. Il trouvait que la recherche devait être désintéressée.

Il avait en somme institué un despotisme éclairé : sa personnalité commandait non seulement le respect mais la dévotion. Le vieil homme, qui régnait en père sévère mais affectueux, était d'une grande patience avec ses malades mais devenait facilement agressif avec ses confrères.

Dans l'atmosphère de l'*Inoculation Department*, le matériel de service était rudimentaire, étuves, autoclaves, boîtes de Pétri, éprouvettes, tubes de verre et microscopes.

À l'heure du thé, Wright rejoignait la "famille" dans la bibliothèque. Massif dans son fauteuil, il jouait un rôle de Père Victorien. Il avait le goût des longues citations en vers : la Bible, le *Paradis perdu*, le Théâtre de Shakespeare étaient fréquemment cités. Fleming se trouvait tout à fait à l'aise dans cette atmosphère de gai badinage.

#### ***Fleming clinicien et homme de recherche : le lysozyme***

Au point de vue de la recherche, Fleming était un artiste qui apprit beaucoup de Wright.

En 1909, la constitution de l'*Inoculation Department* fut définitivement établie avec son administration par un Comité où Wright décidait.

Fleming s'occupait le matin des salles où se trouvaient les malades. L'après-midi s'ouvrait la consultation où étaient présentés les cas d'infection jugés sans espoir par les médecins classiques. On prélevait du sang, on l'étiquetait. Après le dîner, on revenait étudier les spécimens sanguins. En même temps, les chercheurs se piquaient eux-mêmes pour utiliser comme contrôle normal une goutte de leur sang.

Fleming passa sa thèse sur : *Les infections bactériennes et les moyens de les combattre*. Au cours de ses travaux, il cherchera toujours le moyen de lutter contre les infections qui étaient l'un des plus dangereux fléaux. Il se sentait bien armé pour cette recherche, étant un naturaliste né. Il considérait les types de discussions de Wright avec amusement. Bien qu'il parlât très peu, il était aimé et estimé dans ce laboratoire.

Au point de vue des défenses naturelles, Fleming fit la découverte en 1924 du pouvoir des sécrétions lacrymales et nasales pour dissoudre et lier certains microbes. Il l'appela ainsi lysozyme. Il chercha à montrer que d'autres sécrétions ou même des tissus contiennent du lysozyme.

Ce lysozyme semblait bien être l'antiseptique naturel, la défense première de la cellule contre les invasions microbiennes.

#### ***Fleming, les sulfamides, le penicillium***

En 1928, Fleming reçut la visite de Pryce qui lui demandait une culture de staphylocoques sur boîte de Pétri. Il chercha parmi les boîtes de Pétri la colonie de staphylocoques demandés. "*Dès que vous ouvrez une boîte de culture, disait-il, vous allez au-devant d'ennui, des choses tombent de l'air*". Soudain, il se tut, puis en prenant la gélose, il dit : "*that is funny*", ceci est bizarre. Sur cette gélose, les moisissures avaient

poussé, mais sur celle-là, autour de la moisissure, des colonies de staphylocoques s'étaient dissoutes et ressemblaient à des gouttes de rosée. Pryce, voyant le vif intérêt que Fleming semblait porter au phénomène, dit : "c'est ainsi que vous avez découvert le lysozyme". Fleming ne répondit pas. Il était en train de prélever avec son anse de platine un échantillon de la moisissure et de le placer dans un tube de bouillon. Fleming mit de côté la boîte de Pétri, il allait la garder précieusement toute sa vie.

La découverte était alors prodigieuse puisqu'elle s'attaquait aux microbes les plus dangereux pour l'espèce humaine. Fleming fit identifier sa moisissure comme étant le *Penicillium notatum*.

La moisissure tombée sur la gélose de la boîte de Pétri avait ainsi un pouvoir lié au *Penicillium notatum*. Toutes les expériences fournies avec les autres moisissures ne produisaient pas de substances anti-bactériennes.

Malheureusement, tous les jus extraits de la pénicilline étaient instables si bien que malgré toutes les recherches chimiques que Fleming fit pratiquer depuis 1929 jusqu'en 1935, elles ne permirent pas de découvrir une médication intéressante au point de vue thérapeutique. Cependant, en 1929 Fleming fit paraître sa communication princeps sur la pénicilline. Mot, dit-il plus tard, de formation tout à fait orthodoxe, pénicilline vient de pénicillium comme digitaline de digitale.

### **III - H. Florey et B. Chain : pénicilline stable et purifiée**

C'est le 24 août 1940 que parut l'article de Howard Walter Florey et Boris Chain dans *The Lancet*. H. Florey était un australien, né à Adélaïde en 1898 qui avait montré le plus vif intérêt pour les sciences, et en particulier la chimie.

Il obtint une bourse d'études fondée par Cécile Rhodes qui le conduisit à l'Université d'Oxford.

Tous les grands sujets physiques ou chimiques le tentaient et en 1925, la Fondation Rockefeller l'envoya aux Etats-Unis où il travailla dans de nombreux laboratoires... Il s'y fit de nombreux amis dont le docteur A.N. Richards de l'Université de Pennsylvanie.

Revenu en Angleterre, il avait connu en 1929 les travaux de Fleming. En 1935, il fut nommé professeur de pathologie à Oxford. Il était dans un institut modèle Sir William Dunn School, beaucoup plus riche en laboratoires que Saint-Mary's, possédant notamment un laboratoire de biochimie.

Florey, dès sa nomination, avait invité Ernst Boris Chain à venir organiser et diriger sa section de biochimie. Chain était né à Berlin en 1906 d'un père russe et d'une mère allemande. Son père était en effet industriel en produits chimiques. Chain, juif allemand et docteur, partit pour l'Angleterre en 1933 ; il travailla successivement à Londres puis à Cambridge où le directeur de l'Institut, Sir Frederick Gowland Hopkins, l'apprécia. C'est ainsi que Sir Frederick lui demanda en 1936 s'il aimerait aller à Oxford pour y exercer la biochimie. Chain fut ravi. Il était alors un homme jeune, vingt-neuf ans, aux cheveux noirs, aux yeux brillants, de grande vivacité d'esprit, très différent des anglais.

Chain alla voir Florey qui lui fit part de l'importance qu'il attachait à la biochimie. Il suggéra à Chain d'élucider le mode d'action d'une substance bactériolytique, le lysozyme.

Parmi les communications que lut Chain, la plus intéressante lui parut être celle de Fleming en 1929 sur la pénicilline qui avait sur le lysozyme la supériorité de détruire les microbes dangereux et était sans toxicité.

Chain confirma que la substance anti-bactérienne était très instable mais cette instabilité même aviva sa curiosité.

Chain pensait que la pénicilline devait être une enzyme instable. Mais il avait à sa disposition le principe très simple de la lyophilisation qui est que dans le vide les solutions aqueuses congelées passent directement de l'état solide à l'état gazeux. C'était le moyen de sauver la pénicilline. En lyophilisant le liquide de culture, Chain obtint une poudre brune qui contenait avec la pénicilline des impuretés. Il dilua donc la solution avec de l'eau et recourut de nouveau à la lyophilisation. Toute la technique d'extraction était faite à 0 à 5 degrés, technique du froid.

Il obtenait ainsi une pénicilline parfaitement purifiée. Il put l'essayer sur une souris et aucune réaction n'apparut.

Florey, très intéressé, répéta aussitôt cette expérience qui révéla la non toxicité de la substance.

Les savants d'Oxford possédaient donc la pénicilline enfin concentrée, stable et en partie purifiée. Ils en conclurent qu'il fallait l'utiliser comme agent thérapeutique. L'expérience cruciale fut faite le 25 mai 1940 sur trois groupes de souris infectées de staphylocoque, streptocoque et *Clostridium septicum*. En juin 1940, c'est le temps de la grande offensive allemande, celui de Dunkerque. L'expérience finale fut cependant faite le 1er juillet sur cinquante souris. Les résultats furent publiés le 24 août 1940 auxquels s'ajoutaient ceux de Gemmingsgartner qui confirmait l'action de la pénicilline, en particulier sur les microbes de la gangrène gazeuse.

Ainsi se constitua l'équipe d'Oxford. On a pu apprécier le travail en collaboration pour développer une idée déjà connue. Fleming disait que pour que naisse quelque chose de tout à fait nouveau, il faut un événement. Lui-même avait vu une moisissure détruire des microbes et son esprit était suffisamment préparé pour interpréter cette expérience et entrevoir des possibilités pratiques.

A la lecture de la communication de Florey et de ses collaborateurs, Fleming eut la vision de ce qu'il avait souhaité, la découverte de la pénicilline purifiée. Il se précipita donc à Oxford où il rencontra pour la première fois Chain. Celui-ci s'écria "*Mais je vous croyais déjà mort !*". Fleming dit alors "*Vous avez été les savants chimistes que j'aurais voulu avoir avec moi en 1929*".

Tout ceci se passait au moment de la tentative d'invasion de l'Angleterre par les allemands.

Il fallait maintenant essayer les traitements pénicilliques sur les infections humaines. Florey alla voir les dirigeants d'une grande usine de produits chimiques et leur demanda s'ils étaient prêts à en assurer la production. Après réflexion, les chimistes refusèrent car la guerre les occupait entièrement.

Cependant, on put, après avoir produit des quantités suffisantes de pénicilline, soigner deux blessés qui guérirent complètement.

Malheureusement, l'Angleterre de 1941 était soumise à des bombardements incessants et la production de la pénicilline en quantité industrielle était impossible.

Florey partit alors en juin 1941 pour les Etats-Unis par Lisbonne. Il emportait dans la doublure de ses vêtements des boîtes de moisissures.

#### **IV - Début d'industrialisation à Peoria**

A New York, Florey retrouva un ami américain qui le dirigea vers un laboratoire à Peoria, dans l'Illinois. Ce laboratoire avait été créé pour faire des recherches en vue d'utiliser des sous-produits organiques de l'agriculture qui polluaient des rivières du Middle West. Le but était de convertir ces déchets en un produit de fermentation utilisable.

Des chimistes avaient concentré leurs efforts sur le *Penicillium chrysogenum*. Leur source d'azote était le "*corn steep liquor*" de trempage du maïs. Ils avaient réussi à en tirer de l'acide gluconique. Florey expliqua alors aux américains l'intérêt considérable de la pénicilline dans la thérapeutique des infections jusque-là mortelles. Les américains furent sidérés du fait qu'aucun brevet n'avait été pris par les anglais pour protéger leur découverte. Les américains suggérèrent cette "*corn steep liquor*" comme un milieu pour des cultures similaires. Ils obtinrent aussitôt des rendements vingt fois supérieurs à ceux d'Oxford. Un peu plus tard, le remplacement du glucose par le lactose accéléra encore le rendement.

Florey parcourait en pèlerin les Etats-Unis et le Canada, si bien qu'il repartit pour l'Angleterre avec les promesses de deux maisons américaines qui s'étaient engagées à produire dix mille litres de pénicilline chacune et à en envoyer à Oxford aux recherches médicales.

Florey avait en outre l'assentiment du docteur Richards, président du Comité de Recherches Médicales. Ainsi avait-il l'appui du gouvernement américain.

Pendant le fructueux voyage en Amérique de Florey, l'équipe, sous la direction de Chain, avait beaucoup travaillé. Ce travail s'était fait malgré les bombardements qui avaient gravement endommagé les maisons et les laboratoires de Fleming.

Une véritable usine s'était organisée à Oxford avec des jeunes filles qu'on appelait des "*penicillin girls*" qui étaient bardées de lainages et chaudement gantées pour vivre dans les chambres froides.

Ainsi, avaient-ils à leur disposition un petit stock qui permettait d'essayer les traitements avant de posséder les dix mille litres d'Amérique.

Il y avait alors un nombre énorme de blessés infectés, notamment des mauvaises brûlures et des fractures à streptocoques. Aucun effet valable ne fut obtenu avec les sulfamides. Le premier patient traité à la pénicilline fut un jeune officier néo-zélandais. Pulvertaft, chirurgien au Caire, avait noté que, depuis six mois au lit, ayant des fractures compliquées des deux jambes, ce malade devait mourir à brève échéance. Il disposait alors d'environ dix mille unités de pénicilline qu'il répartit en injections locales dans les jambes, avec trois piqûres par jour. Dès le premier traitement, il trouva les streptocoques à l'intérieur des leucocytes. Ceci lui sembla un véritable miracle. En dix jours, la jambe gauche fut guérie et en un mois, le jeune homme fut sur pied.

De 1940 à 1942, on parla très peu d'Alexander Fleming.

En réalité, Fleming soigna efficacement un des directeurs de l'Usine d'Optique qui présentait des signes de méningite à streptocoques. Grâce à Florey, il disposa d'une

quantité suffisante de pénicilline pour faire des injections intramusculaires et intra-vertébrales. Le méningitique traité du 6 au 28 août fut guéri et quitta l'hôpital le 9 septembre. Cette guérison fit grand bruit et le *Times* du 27 août 1942 publia un éditorial intitulé : *Penicillium*.

Dans cet article, il était question de mettre tout en oeuvre pour développer l'industrie de la pénicilline sous l'action du gouvernement.

Bien entendu, il n'était question ni de Fleming ni de l'équipe du laboratoire d'Oxford.

Aussi, l'article d'Almroth Wright mit rapidement les choses au point. "*C'est le professeur Alexander Fleming qui, le premier, a suggéré que d'importantes applications thérapeutiques en médecine pourraient en être faites*". La secrétaire, Mrs Buckley a dit : "*ce qui me frappait était l'extraordinaire différence entre le grand Maître, Sir Almroth, grand intellectuel, poli, académique (81 ans) et le professeur Fleming avec son cerveau puissant, mais une manière bien plus enfantine d'aborder toutes choses et même le travail*".

Le 25 septembre 1942 fut réunie une conférence où les cinq grandes firmes américaines : May et Baker, Glaxo, Wellcome, British Drug Houses et Boots collaborèrent à la Therapeutic Research Corporation. D'autres sociétés, Imperial Chemical Industries, Kenball, Bishop étaient en rapport direct avec l'équipe d'Oxford, Florey et Chain.

Tous convinrent de donner toutes les explications utiles pour la mise en route des fabrications anglaises. De nombreux savants anglais partirent aux Etats-Unis pour étudier les progrès faits.

La production massive de pénicilline n'avait pris le départ que lentement. La firme Charles Pfizer qui avait une grande expérience des fabrications envoya un de ses dirigeants à Brooklyn pour y étudier la façon dont guérissaient les malades, en particulier l'endocardite infectieuse.

Depuis 1943, les usines américaines commençaient à produire d'importantes quantités de pénicilline, mais au départ elles étaient réservées uniquement à l'armée.

Il fallut en outre que Florey rappelât que la première mesure à prendre était de faire une culture de germes infectieux et un essai de leur sensibilité à la pénicilline.

Les traitements apparaissaient au début vraiment miraculeux, en particulier sur les gangrènes gazeuses mais aussi sur les blessures gravement infectées.

#### BIBLIOGRAPHIE

CAMELIN A. Lyon et l'Ecole du Service de santé militaire. *Lyon méd.*, 1958, VII, 22.

CLARK R.W. The life of Ernst Chain ; penicillin and beyond. New York, St Martin's press, 1985.

DELAUNAY A. Pasteur et la microbiologie. Presses universitaires, 1950.

DOLMAN C. Alexander Fleming. In : *Dictionary of scientific biography*, Vol. V, Scribner's, New York, 1972, 28-31.

DOLMAN C. Reflections on Sir Alexander Fleming. *Chemistry*, 1978, 51, 6-10.

FENNER F., FLOREY W.H. In : *Dictionary of scientific biography*, Vol. V, Scribner's, New York, 1972, 41-44.

FLEMING A. *Penicillin*. Butterworth medical publications, 1946 (1950).

FLOREY, CHAIN, HEATLEY, JENNINGS, SANDERS, ABRAHAM. *Antibiotics*. Oxford medical publications, 1949.

HARE R. *The birth of penicillin and the disarming of microbes*. London, 1970.

MAUROIS A. *La vie de Sir Alexander Fleming*. Hachette, Paris, 1959.

PASTEUR VALLERY RADOT. *Images de la vie et de l'oeuvre de Pasteur*. Flammarion, Paris, 1956.

WAINWRIGHT M. *Miracle cure : the story of antibiotics*. Blackwell, Oxford, 1990.

WILSON D. *In search of penicillin*. Knopf, New York, 1976.

#### SUMMARY

***Difficulties for the industrialization of penicillin (1928-1942) : Alexander Fleming, Howard Florey, Ernst Boris Chain.***

*Penicillium* evoked by Ernest Duchesne in his Lyons medical thesis (1897) has been brought forward due to its therapeutic properties by Alexander Fleming in 1929.

The latter, assistant at the Inoculation Department (Sir Almroth Wright's laboratory in London) first discovered the lysozyme derived from lacrymal and nasal secretions, then penicillin derived from *Penicillium notatum*.

He published in 1928 his results on penicillin's prodigious properties against various microbes such as staphylococci, streptococci ; it was inoffensive and not toxic for the human body. The active extract obtained was however unstable.

Howard Florey, Australian and Ernst Boris Chain, Jewish emigrant from Berlin succeeded in 1939 to obtain a purified and stable extract on the condition of being treated under cold conditions.

England during the "Blitz" was not able to industrialize the culture, so Florey had to go to Peoria in the United States to find the "corn steep liquor" derived from maize from where it was possible to industrialize great quantities of penicillin.

Five great American pharmaceutical firms held an assembly on September 25, 1942 which led to the massive production of penicillin.

At the beginning it was only used to cure soldiers' wounds and burns and limited in private practice because of the few quantities available.