

Penicilina: a lenda, a história e os acasos

Barros Veloso*

“A descoberta começa com a consciência da anomalia”. Thomas Kuhn

“Quando os factos se tornam lendas imprimam-se as lendas e não os factos”. John Ford

Resumo

O autor, a partir da leitura de duas biografias de Howard Florey, faz a suas própria narrativa dos acontecimentos que levaram à descoberta da penicilina, tentando retirar-lhe os componentes lendários e realçando os acasos e os acontecimentos fortuitos sem os quais ela não teria sido possível.

Palavras chave: *penicilina, Fleming, Florey, Chain.*

Abstract

The author, based upon the reading of two biographies of Howard Florey, writes about the events which led to the discovery of penicillin. He tries to give a realistic account putting away any legendary happenings and chances which allowed this discovery to take place.

Key words: *penicillin, Fleming, Florey, Chain.*

A descoberta da penicilina foi um dos acontecimentos mais importantes de toda a história da Medicina. Mas, além disso, foi também um acontecimento que teve a rara felicidade de ser contado e recontado, não só por alguns dos que nele intervieram directamente, como Alexander Fleming e Ernst Chain, mas também por outros, como André Maurois e Ronald Hare, que nos deixaram relatos pormenorizados dos factos e das personagens. De todos estes testemunhos escritos e de tudo o que foi dito depois nasceu uma lenda que não é mais do que a versão reduzida e deformada do que, de facto, se passou. Nesta lenda conta-se a história de Fleming, obscuro bacteriologista do St. Mary's Hospital; de um esporo de *Penicillium notatum* que entrou pela janela do seu gabinete e que cresceu numa placa de Petri; da inibição das colónias de estafilococo inibidas de crescer à

volta da zona aonde o fungo se desenvolveu; do entusiasmo de Fleming perante este fenómeno, em contraste com a indiferença dos colegas e do director do laboratório; dos 10 longos anos em que o *Penicillium notatum* esteve esquecido nas páginas do *British Journal of Experimental Pathology*; e do recomeço das investigações que culminaram na descoberta da penicilina, a que se seguiu a fama, a glória e o Prémio Nobel.

Há alguns anos, durante uma visita a Londres, descobri numa livraria duas biografias de Howard Florey. Foi ao lê-las que me dei conta de que a história da penicilina, tal como eu a conhecia e algumas vezes a contara, além de incompleta, estava cheia de imprecisões e, como todas as narrativas com carga mítica, criara um herói — Fleming — omitindo muito do que de importante estava para trás e para a frente. Descubri, além disso, alguns aspectos fascinantes que contêm ensinamentos preciosos para todos os que se interessam pela história da Medicina e pela génese das grandes descobertas científicas. A versão que se segue, baseada na leitura daquelas duas biografias, não pretende ser nem original nem definitiva: apenas procura contribuir para compreender melhor o que realmente se passou.

Começamos então pelo princípio. Em 1881, nasceu, em Nothfield, Alexander Fleming que, em 1906, viria a licenciar-se em Medicina no St. Mary's Hospital. Era um homem de baixa estatura, introvertido, com grande capacidade de trabalho, que praticava com entusiasmo vários desportos: tiro, futebol, boxe e polo aquático. Foi precisamente este gosto pelos desportos que acabou por decidir a sua carreira. De facto, alguém terá sugerido a Almroth Wright, director do laboratório, a sua contratação como investigador a fim de garantir que permanecesse na equipa de tiro do St. Mary's, de que era elemento destacado. Fleming que, nessa altura, se tinha já decidido pela carreira de cirurgião, acabou por aceitar, talvez porque, desde os seus tempos de estudante, nutria grande admiração por Almroth Wright. É assim que, em 1908, fazia já parte do recém-criado “Inoculation Department” do St. Mary's Hospital.

Almroth Wright e Fleming eram duas personagens completamente diferentes. Wright possuía uma personalidade brilhante e uma vasta cultura geral e era um conversador versátil, capaz de abordar qualquer tema com rara eloquência. Fleming era precisamente o contrário: introvertido, apagado, com um discurso confuso e sem chama. Outra divergência, esta de ordem científica, iria a pouco e pouco separar estes dois homens. Wright acreditava que a solução para o tratamento das infecções estava na estimulação das defesas naturais. Fleming, pelo contrário, começava a alinhar com aqueles que, na tradição de Erlich, acreditavam na hipótese de vir em a descobrir a

* Director do Serviço 1 de Medicina Interna do Hospital de Santo António dos Capuchos, Lisboa

“bala mágica” capaz de atingir as bactérias sem lesar as células do organismo. Vale a pena analisar como é que estas ideias foram ganhando forma no seu espírito.

Num dia do Inverno de 1922, Fleming, que estava com uma terrível “constipação”, lembrou-se de cultivar uma gota da sua própria secreção nasal numa placa de Petri. O resultado foi o que se esperava: desenvolveram-se várias colónias a partir de uma flora bacteriana mista. Mas Fleming notou um pormenor estranho: algumas das colónias pareciam dissolver-se no meio de cultura. Isolou então uma dessas colónias, fez novas culturas em meio líquido e submeteu-as à acção de uma gota de secreção nasal. O resultado foi idêntico: a suspensão, que era turva, tornou-se transparente porque as bactérias sofriam lise. Fleming verificou a seguir que o fenómeno se repetia com outros líquidos orgânicos, como as lágrimas, a saliva e o muco brônquico. Concluiu que em todos eles existia uma substância, provavelmente um enzima, que digería a parede de certos microrganismos e deu-lhe o nome de *lisozima*. A bactéria observada por Fleming não era conhecida anteriormente e Wright baptizou-a com um estranho neologismo: *Micrococcus lysodeikticus*. Infelizmente as bactérias patogénicas não eram afectadas por esse enzima, o que constituiu para Fleming uma enorme decepção. Depois de publicar 4 artigos nos *Proceedings of Royal Society* e no *British Journal of Experimental Pathology*, o último dos quais em 1927, Fleming não conseguiu progredir mais e abandonou o projecto lisozima.

Em 1928, sabe-se que andava interessado no estudo das estirpes de estafilococos, tentando relacionar a sua virulência com a cor das colónias. No fim de Julho desse ano, preparou-se para iniciar as suas férias e, ao arrumar o gabinete, empilhou as placas com colónias de estafilococo numa das extremidades da bancada de trabalho, mantendo-a livre para outro colega. Quando regressou de férias, pegou nas placas que estavam por cima e voltou a observá-las, juntamente com um antigo colaborador que o foi visitar, a quem foi dando explicações sobre os seus projectos. Notou então que, nalgumas delas, se tinham desenvolvido fungos e leveduras, o que não constituía um acontecimento invulgar, sobretudo em placas que, como aquelas, tinham ficado várias semanas esquecidas. Mas Fleming, com o seu instinto nato para valorizar fenómenos aparentemente sem importância, reparou que, à volta de uma zona onde crescera um dos fungos, existia um halo no qual os estafilococos não se desenvolviam. Terá dito na altura “That’s funny!”, e durante esse dia mostrou a sua descoberta a vários colegas do laboratório, nomeadamente a Almroth Wright. Todos eles, incluindo o próprio Fleming, pensavam que se tratava de outra lisozima e parece que alguém terá mesmo dito qualquer coisa como isto: “Lá vem outra vez o chato do Fleming com as suas lisozimas”.

Apesar disso, Fleming decidiu investigar. Fotografou as placas e sub-cultivou o fungo. Nos dias seguintes, o fungo cresceu, formando uma fina película sob a qual se acumulou um líquido. Depois preencheu, com este líquido, um sulco na superfície de uma placa de agar em que fez sementeiras de várias bactérias. Após incubação, verificou que algumas bactérias (estreptococo, estafilococo, pneumococo, meningococo) não se desenvolviam na vizinhança do sulco. A conclusão parecia evidente: o tal líquido, segregado pelo fungo (*mould juice*), continha uma substância que inibia o crescimento de certas bactérias, por felicidade todas elas patogénicas. Um micologista que trabalhava no andar de baixo identificou o fungo como sendo o *Penicillium rubrum* o que, como se verificou mais tarde, estava errado, pois se tratava, de facto, do *Penicillium notatum*.

Nas semanas seguintes, Fleming continuou a investigar, tendo concluído várias coisas: o líquido, a que chamou *penicilina*, continuava a impedir o crescimento das bactérias mesmo quando diluído a 1/800; não afectava a actividade dos leucocitos; não revelava qualquer toxicidade quando injectado no peritoneu dos ratos.

As experiências feitas no homem foram nessa altura muito limitadas e, de certa forma, anedóticas. Craddock, que trabalhava no Departamento e que sofria de uma agudização de sinusite, instilou um pouco de líquido nas fossas nasais, sem qualquer benefício, mas também sem qualquer efeito secundário; Rogers, que fazia parte da equipa de tiro e que contraíra uma conjuntivite pneumocócica na véspera de uma competição, melhorou rapidamente com a instilação de algumas gotas no globo ocular. Mas tudo parece ter ficado por aqui. Fleming terá pensado que a penicilina poderia ser eficaz quando aplicada topicamente em feridas infectadas e, como homem de laboratório, valorizou muito o seu emprego na selecção “in vitro” de culturas de bactérias não sensíveis, como o *Haemophilus influenza*. O que nunca lhe terá passado pela cabeça é que a penicilina viesse a ter qualquer semelhança com o “antisséptico perfeito” sonhado por Lister. Se lhe ocorresse essa ideia, teria feito a experiência decisiva, já realizada várias vezes por Erlich e seus discípulos: teria injectado em ratos o líquido produzido pelo *Penicillium*, juntamente com doses letais de estreptococos ou de pneumococos. Mas Fleming não deu este passo e a “sua penicilina”, como mais tarde lhe chamaria, iria ficar esquecida 10 anos, até que estranhos e fortuitos acontecimentos a trouxessem outra vez para a ribalta.

No verão de 1929, Fleming publicou as suas observações sobre o *Penicillium* no *British Journal of Experimental Pathology* e, aparentemente, deixou de se interessar pelo assunto, como ficou demonstrado por dois factos: em 1931, numa publicação da *Royal Society of Medicine*, intitulada “*The indication for, and value of the intravenous injection of germicides*”, não fez qualquer

referência à penicilina e, numa conferência feita em 1932, na Secção de Patologia da mesma Sociedade, escolheu como tema a lisozima e não pronunciou sequer a palavra "penicilina".

Entretanto, algumas tímidas tentativas eram feitas por outros investigadores no sentido de isolar a penicilina. Logo após as primeiras observações de Fleming, dois homens do seu laboratório, Craddock e Ridley, conseguiram verificar que, em certas condições de Ph e após extracção pelo álcool ou pela acetona, seguida de concentração no vácuo, era possível remover grande parte do material inactivo. Após estas experiências, foi possível concluir que a penicilina era uma molécula pequena, não-proteica que, nas condições usadas, se revelava muito instável. Após poucos meses, estas observações eram, contudo, interrompidas sem serem publicadas.

Em 1932, outro grupo de investigadores, estes bioquímicos profissionais, chefiados por Harold Raistrick, procuraram também purificar a penicilina. Mas o seu interesse estava longe de se centrar na busca de uma substância com acção anti-bacteriana: o que pretendiam era estudar a composição química dos fungos. Raistrick tinha isolado já 16 novos compostos orgânicos produzidos por fungos e solicitou a Fleming a cedência de uma cultura de *Penicillium notatum*. Entregou este projecto a um colaborador seu, P. W. Cluterbuck, e a um bacteriologista, R. Lovell, que na fase inicial percorreram etapas semelhantes às de Craddock e Riedley, cujos trabalhos, aliás, desconheciam. Para além disso, deram um passo decisivo ao verificarem que, após acidificação do meio, a penicilina se dissolvia em éter, libertando-se de grande parte das impurezas. Acontecia, contudo, que uma vez dissolvida, a penicilina perdia toda a sua actividade biológica, e as tentativas para a separar do éter, sem a destruir, revelaram-se infrutíferas. Esta dificuldade que na altura não foi resolvida iria ser o problema crucial cuja solução, sete anos mais tarde, permitiu avançar rapidamente para a produção de penicilina e para a sua utilização terapêutica.

Nesta primeira fase da história da penicilina ainda houve mais duas tentativas frustradas para isolar a substância activa. Uma, pouco importante, de R. D. Reid, um micologista da Pensilvânia, que não conseguiu chegar mais longe do que os outros, mas que verificou que, entre as numerosas variedades de *Penicillium*, nenhuma revelava a actividade da estirpe original observada por Fleming, o que veio realçar, mais uma vez, que se tinha tratado realmente de um acaso feliz e verdadeiramente excepcional. A outra, mais importante, foi protagonizada em 1934 por Lewis Holt que trabalhava no laboratório de Fleming, mas que dele parece não ter recebido qualquer apoio. Depois de vários ensaios, fez duas descobertas importantes, a saber: que, em meio ácido, a penicilina era solúvel em acetato de amilo, e que podia ser separada deste solvente após alcalinização. Ora, foi preci-

samente esta última operação que viria a revelar-se mais tarde de importância decisiva. Mas Holt, incapaz de estabilizar a actividade das substâncias isoladas, interrompeu estas pesquisas ao fim de algumas semanas, sem as publicar.

Nos 4 anos que se seguiram, ou seja, entre 1934 e 1938, não consta que alguém se tivesse preocupado com a descoberta de Fleming, e a penicilina parecia destinada a ficar para a história como uma curiosidade sem qualquer utilidade. Para este esquecimento é possível que tenha contribuído uma outra descoberta científica ocorrida na Alemanha, nos Laboratórios I.G. Farbenindustrie da Bayer, em Elberfeld. Domack, que investigava a actividade antibacteriana de vários corantes, na linha de uma das ideias-chave de Erlich, acabara de descobrir o *Protonisil rubrum*, cuja eficácia no tratamento das infecções pneumocócicas do ratinho parecia indiscutível. Toda a comunidade científica se emocionou com este acontecimento e o próprio Almroth Wright se deslocou a Elberfeld para tomar contacto com as investigações em curso. Não deixa de ser interessante referir que, no seu regresso a Inglaterra, exprimiu algum desprezo pelos métodos utilizados pela escola de Erlich, que consistiam em experimentar, cegamente, listas de compostos químicos, à espera de que algum revelasse, sem se saber porquê, actividade antibacteriana. Para ele, toda a investigação científica deveria desenvolver-se a partir de uma ideia teórica original.

Nos finais de 1938, deu-se, contudo, uma estranha convergência de acontecimentos que levariam à redescoberta da penicilina. De facto, um pouco por acaso, alguns investigadores iriam encontrar o trabalho de Fleming e recomeçar as investigações. No centro destes acontecimentos situa-se, desde o início, o australiano Howard Florey. Nascido em 1898 na cidade de Adelaide, aí fez o curso de Medicina, que terminou em 1920. A sua vocação para a investigação científica e as suas elevadas classificações durante o curso permitiram-lhe a obtenção de uma bolsa, com a qual tomou o rumo de Inglaterra. Em 1922, conseguiu um lugar em Oxford, no Departamento de Fisiologia, e aí se manteve até 1924. A sua carreira iria depois repartir-se por vários locais: Philadelphia (1925), London Hospital (1926), Cambridge (1927-1932) e Sheffield (1932-1935). Quando, em Maio de 1935, voltou novamente a Oxford, depois de ter conseguido a sua nomeação como professor de Patologia da Dunn School, trazia um currículo invejável e gozava de grande prestígio no meio médico britânico. Concretamente, nos 10 anos anteriores, tinha desenvolvido, com assinalável êxito, projectos de investigação abrangendo áreas tão diversas como o comportamento do epiplon nas infecções do peritонеu, a terapêutica do tétano, os métodos anticoncepcionais, a circulação linfática, a circulação cerebral, a acção protectora do muco intestinal, etc. Agora ia ter, pela primeira vez, oportunidade de montar um departamento a seu gosto,

que lhe permitiria continuar a investigar e a dedicar-se particularmente a um assunto pelo qual mantinha, desde 1929, um interesse permanente e quase obsessivo: a lisozima.

Quando, alguns anos antes, tinha começado a estudar o muco e a sua acção protectora à penetração das bactérias no lúmen intestinal teve conhecimento dos trabalhos de Fleming sobre a lisozima e admitiu que, para além de um efeito mecânico, estivesse envolvida, neste processo de protecção da mucosa, a acção bactericida de uma substância semelhante, presente no muco. Para conseguir identificar a estrutura química da lisozima e do substracto da parede bacteriana sobre o qual actuava, tornava-se necessária a colaboração de um bioquímico com experiência. Depois de várias tentativas, Florey decidiu-se pela contratação de Ernst Chain que lhe tinha sido indicado por Gowland Hopkins, professor de Bioquímica em Cambridge e Prémio Nobel da Medicina em 1929.

Chain era um judeu alemão que, em 1936, fugira ao regime de Hitler e se fixara em Inglaterra. Para além de excelente bioquímico, possuía grandes talentos musicais e podia perfeitamente ter sido um pianista de fama internacional. Mas, no novo departamento da Dunn School, dirigido por Florey, veio encontrar as condições de estabilidade e segurança que lhe iam permitir desenvolver as suas qualidades de bioquímico.

Apesar de algumas dificuldades financeiras do departamento e de, simultaneamente, estarem em curso vários projectos de investigação que despertavam na altura grande interesse — como é o caso do “projecto linfócito” a cargo de Sanders, Medawar e Jean Taylor — Florey continuava interessado em desenvolver as pesquisas sobre a lisozima. Este seu empenho acabaria por dar resultados concretos: em 1937, Chain conseguiu purificar a lisozima e, entre 1938 -1940, identificou a sua estrutura química — um polisacárido — e a composição do substracto da parede bacteriana sobre o qual actuava — a N - acetilglucosamida. Até ao fim da vida, Chain nunca deixaria de realçar a importância deste trabalho que abriu um capítulo novo no conhecimento da bioquímica das bactérias.

Foi precisamente entre 1937 e 1938, quando se dedicava a investigar a lisozima, que Chain decidiu fazer uma pesquisa bibliográfica exaustiva sobre a lise bacteriana provocada por substâncias naturais. Este fenómeno a que Vuillemin, em 1889, dera o nome de “antibiose”, tinha sido objecto de uma revisão realizada em 1928 por Papacotas e Gaté. Além dos vários casos de antibiose entre bactérias, descritos até aí, conheciam-se também alguns em que estavam envolvidos fungos: Lister, em 1871, tinha feito a primeira observação não publicada de um *Penicillium* com acção antibacteriana; Gosio, em 1896, descreveu uma substância cristalina produzida por um *Penicillium* que inibia o crescimento do *Bacillus anthracis*; Duchesne, em 1877, referiu-se à acção protectora do *Penicillium glaucum* em animais infectados com microrganismos virulentos.

Chain conseguiu, entretanto, reunir cerca de 200 referências bibliográficas e foi precisamente nessa altura que descobriu, por mero acaso, o artigo de Fleming sobre a penicilina. Este é um momento decisivo e por isso deve ser contado com algum pormenor. Quando, no princípio de 1938, Chain se dirigiu, um dia, à biblioteca da Dunn School, ia à procura dos artigos sobre a lisozima publicados no *British Journal of Experimental Pathology*. Dois deles, da autoria de Fleming, estavam nos volumes 3 e 8; outros dois, da autoria de Florey, no volume 11. Foi ao folhear, como provavelmente era seu hábito, os vários volumes da revista, que encontrou, por mero acaso, no volume 10, o artigo de Fleming sobre a penicilina. É curioso que aquilo que despertou o seu interesse, foi ter pensado, erradamente, que Fleming tinha encontrado apenas mais outra lisozima.

Florey não se mostrou entusiasmado quando Chain lhe comunicou esta descoberta. Sabendo-se que era leitor habitual do *British Journal of Experimental Pathology* de que tinha sido, durante algum tempo, um dos editores, tudo leva a crer que conhecesse já o artigo de Fleming a que provavelmente não atribuiu grande importância. Mesmo assim, deu o seu acordo à ideia de Chain de incluir a penicilina, juntamente com a actinomicina e o bacilo pociânico, numa investigação de substâncias antibacterianas. Ambos sabiam que a procura de agentes antibacterianos com eventual aplicação terapêutica, poderia atrair patrocínios e financiamentos de que o Departamento necessitava para pôr em marcha os seus projectos. Mas, tal como haviam de garantir mais tarde, nunca na altura lhes passou pela cabeça que poderiam vir a contribuir para “minorar o sofrimento da humanidade”: os seus objectivos eram, de facto, exclusivamente científicos.

Chain começou imediatamente a investigar a penicilina, mas os primeiros resultados foram desanimadores, pois nem sequer conseguiu reproduzir aquilo que tinha sido a primeira observação de Fleming. A razão, que é agora conhecida, era nessa altura um enigma. Como hoje se sabe, a penicilina, ao contrário da lisozima, não provoca a lise bacteriana: a sua acção exerce-se apenas numa fase da multiplicação celular, inibindo a síntese da parede, facto que provoca, posteriormente a autólise. Na presença de colónias já constituídas a penicilina é, portanto, totalmente ineficaz. Por isso, é difícil de perceber o que se terá passado na placa de Petri com colónias de estafilococos onde Fleming observou, pela primeira vez, o fenómeno de antibiose provocado pelo *Penicillium*. Apesar das várias explicações que têm sido propostas, o mistério ainda subsiste.

Entretanto, Chain lançou-se no estudo bioquímico da penicilina repetindo as etapas percorridas 6 anos antes por Clutterbuck e Lovell, tendo chegado às mesmas conclusões: tratava-se de uma molécula pequena que, seguramente, não era um enzima e que revelava grande instabilidade biológica. Mas, tal como aqueles

investigadores, acabou por esbarrar no mesmo obstáculo: uma vez dissolvida em éter não parecia possível separá-la conservando intacta a actividade biológica.

Um aspecto ficou, nessa altura, envolto em mistério: o momento exacto e as razões que terão levado Florey a decidir-se pela penicilina como um projecto prioritário do seu departamento. Tudo leva a crer que a decisão data do Outono de 1938, mas as circunstâncias em que foi tomada estão envoltas em alguns componentes lendários. Veja-se, por exemplo, que as duas narrativas daquele que foi um dos momentos cruciais da história da penicilina referem que Florey se encontrava, na altura, debaixo de uma árvore. Só que numa dessas narrativas a árvore era um castanheiro e na outra um ulmeiro. De qualquer maneira, irão passar-se alguns meses até que Florey venha a envolver-se completamente no projecto, provavelmente por estarem ainda em curso as investigações sobre a lisozima e o linfócito, e não haver grandes disponibilidades financeiras. Finalmente, a 6 de Setembro de 1939, três dias depois da declaração de guerra da Inglaterra à Alemanha, dirige uma exposição a Edward Mellanby secretário do Medical Research Council, a solicitar verbas para investigar a penicilina. Nessa exposição, começa por fazer uma referência à lisozima e à sua acção sobre algumas bactérias não-patogénicas; menciona outros microrganismos activos contra o estafilococo, o pneumococo e o estreptococo, entre os quais inclui certas estirpes de *Penicillium*, o *Actinomyces* e algumas bactérias do solo; a seguir, refere-se especialmente à penicilina "descoberta por Fleming" e à sua eficácia em relação ao estafilococo; por fim, acaba por fazer, contra o que era seu hábito, algumas afirmações de rigor discutível, provavelmente pressionado pelo entusiasmo e a impaciência de Chain. Concretamente, diz que a penicilina poderá ser purificada e produzida em grandes quantidades com relativa facilidade e que não revela qualquer toxicidade para os animais de laboratório. A verdade é que todos estes factos aguardavam na altura confirmação que só viria a verificar-se posteriormente.

O Medical Research Council concordou com a atribuição de verbas que eram claramente insuficientes (cem libras por ano durante 3 anos), mas Florey, provavelmente já convencido da importância do projecto, recorreu à Fundação Rockefeller onde tinha alguns amigos. No início de 1940, são-lhe atribuídas verbas substanciais (1670 libras anuais durante 5 anos) e Florey, pela primeira vez na sua carreira, dispõe de um financiamento que lhe permite empenhar-se a fundo num projecto em que tinha decidido arriscar.

Entretanto, resolveu convidar para a equipa o jovem N.G. Heatley, que desistira de estagiar na Dinamarca, face ao agravamento da situação no continente europeu. Heatley era um especialista em engenharia de laboratório, que tinha, além disso, grande habilidade para a óptica, a mecânica, a carpintaria e a electricidade. Era, portanto, o homem certo na fase em que tudo estava dependente dos

problemas práticos que se levantavam à produção de penicilina. Aceitou o convite com a condição de trabalhar sob as ordens directas de Florey e sem a interferência de Chain.

Os problemas que, no início de 1940, se colocavam a esta equipa eram quatro: 1- encontrar maneira de acelerar o crescimento do fungo de forma a dispor de quantidades suficientes de penicilina; 2- conseguir métodos rigorosos de avaliação da actividade antibacteriana; 3- estudar os efeitos biológicos da penicilina sobre as células e os organismos vivos; 4- desenvolver a bioquímica necessária à purificação da penicilina.

A primeira contribuição importante veio de Heatley, que passou a usar segmentos de pequenos tubos de vidro, contendo penicilina, implantados na superfície do agar (*cylinder plate*). O diâmetro do círculo, à volta dos tubos, em que os microrganismos não se desenvolviam passou a constituir a unidade de grandeza para avaliar a actividade da penicilina, que mais tarde seria expressa em unidades.

O grande avanço bioquímico surgiu em Março de 1940, durante uma das reuniões em que participavam todos os elementos da equipa e que Florey tinha por hábito promover. Discutia-se então o mesmo problema de sempre, e que Chain não conseguira resolver: separar a penicilina dissolvida no éter. Embora não fosse assunto da sua competência, Heatley sugeriu a medo uma solução que lhe parecia óbvia: se para dissolver a penicilina no éter tinha sido preciso acidificar o meio, porque não fazer o contrário, ou seja, alcalinizá-lo? Florey achou a proposta interessante e entendeu que deveria ser confirmada pelo próprio Heatley. Chain considerou a ideia disparatada e não gostou desta interferência na área da sua competência específica. Mas a experiência resultou e, a partir daí, as relações entre os elementos da equipa ficaram seriamente afectadas.

O aumento de produção de penicilina bruta foi conseguido após uma visita de Paul Fildes, amigo pessoal de Florey, que sugeriu a adição de extracto de levedura de cerveja ao meio. Além disso, foi sendo constatado que, se o líquido acumulado sob o fungo fosse aspirado quando a concentração de penicilina era máxima, passava a ser possível obter colheitas sucessivas sem que a produção de cada uma delas diminuísse. Finalmente, com a liofilização, inventada na América em 1935, passou a ser possível manter a estabilidade das substâncias orgânicas que, tal como a penicilina, se revelavam muito instáveis. O resultado final de tudo isto foi um pó acastanhado com uma actividade biológica muito superior à de todos os outros extractos conseguidos até aí.

Em Março de 1940, Chain dispunha de 100 miligramas desse pó e começou a ficar impaciente. Achava que era altura de testar a toxicidade da penicilina no animal, mas Florey, que tinha a seu cargo esta área, mantinha-se alheado e indiferente às suas insistências. Chain decidiu então avançar sozinho. Diluiu uma parte do pó de que dispunha

(entre 40 a 80 miligramas, não se sabe bem) em 2 c.c. de água e pediu a um biologista, J. M. Barnes, que injectasse 1 c. c. da solução em cada uma das cavidades peritoneais de 2 ratos. O resultado desta experiência foi claro: os animais não revelaram qualquer reacção secundária. Chain, que não sabia que Fleming tinha feito uma experiência semelhante, comunicou o facto a Florey, que, como era de esperar, reagiu mal. Desta vez, foi ele que sentiu que se tratava de uma invasão da área que lhe estava atribuída — os ensaios biológicos — e as relações com Chain, que já não eram muito boas, ficaram ainda mais afectadas por este incidente. Mas, depois disto, Florey não estava disposto a perder outra vez o controlo da situação e, nos dois meses seguintes, apoiado por Margaret Jennings, encarregou-se de repetir as experiências em animais, ensaiando diversas vias de administração e colhendo informações sobre absorção, excreção e possíveis efeitos tóxicos. É desde então que se ficou a saber que a penicilina é destruída no estômago, que é activa quando injectada por qualquer via e que é excretada inalterada na urina.

Por essa altura, Florey agregou à equipa dois bacteriologistas — Gardner e Jean Orr-Ewing — que se encarregaram de estudar a sensibilidade dos diversos microrganismos à penicilina. Foram eles que, ao observarem o crescimento das bactérias sensíveis na presença da penicilina, chegaram à conclusão de que ela não actuava como um antisséptico ou uma enzima, mas como um bloqueador do processo normal de divisão celular. Além disso, Gardner, através de experiências minuciosas, determinou a dose mínima de estreptococos virulentos, 100% letal para ratos de peso padronizado.

Estavam, pois, cumpridas as etapas que colocavam Florey e a sua equipa no limiar do passo decisivo: demonstrar a eficácia da penicilina em animais infectados experimentalmente. Foi o próprio Florey que preparou o protocolo de experiência — verdadeiro modelo de economia de meios para um máximo de informação, tão necessária face à escassez de substância activa. Às 11 horas de sábado, 25 de Maio de 1940 — na mesma altura em que o exército inglês estava a ser empurrado para Dunquerque — em Oxford eram administradas a 8 ratos, por via intraperitoneal, doses de 100 milhões de estreptococos. Quatro deles não receberam tratamento posterior e serviram de grupo controlo; os outros quatro foram divididos em dois pares: ao par “A” foram injectados 10 mg de penicilina por via sub-cutânea; ao par “B” uma dose inicial de 5 mg, repetida cinco vezes nas 10 horas que se seguiram. Durante a tarde desse dia, tudo parecia normal. Às 10 horas da noite, Florey deixou uma nota escrita a Heatley em que dava conta da situação: os ratos tratados com penicilina estavam perfeitamente bem, à excepção de um, do grupo “B”, que parecia menos activo; os ratos do grupo controlo pareciam muito doentes (às 3h 30m da madrugada Heatley iria verificar que todos os ratos deste grupo estavam mortos). Na manhã de domingo, dia 26, Florey,

Chain e Heatley voltaram ao laboratório onde confirmaram a morte de todos os ratos do grupo controlo e constataram que, no grupo tratado, três ratos estavam perfeitamente bem, enquanto que um deles parecia estar doente. Nessa altura, aperceberam-se imediatamente de que estavam a assistir a um acontecimento verdadeiramente vulgar, e Florey, habitualmente tão circunspecto e cauteloso, telefonou à Dr^a Jennings e exclamou: “It looks like a miracle!”. Sem perder tempo, Florey repetiu a experiência na 2^a feira, com 10 ratos, e na 3^a feira, com 16 ratos, e os resultados foram sobreponíveis.

Mas, nessa altura, a investigação estava seriamente limitada pela incapacidade de aumentar a produção e pela dificuldade de obter material suficientemente purificado. Basta dizer que em 1940 conseguia-se uma actividade de 5 unidades por miligrama, que aumentou para 10 unidades por miligrama em 1941. Quando, anos mais tarde, a penicilina foi por fim purificada, a actividade passou a ser de 1800 unidades por miligrama. Apesar destas dificuldades, as experiências continuaram durante os meses de Junho e Julho de 1940, com um número de animais muito maior (50 a 75) e utilizando doses variáveis de bactérias patogénicas e de substância activa. Uma vez que a eficácia da penicilina parecia indiscutível, o problema era definir as doses, o intervalo entre as várias administrações e o período de duração do tratamento.

Entretanto, vivia-se o período da Batalha de Inglaterra e a ameaça da invasão pelas tropas de Hitler. Os professores de Oxford organizaram um plano de evacuação dos seus familiares para o Canadá, no qual foram incluídos os filhos de Florey — Charles e Paquita. Além disso perante o perigo de que os alemães um dia ocupassem Oxford e se apoderassem de uma descoberta tão valiosa como a penicilina, toda a equipa estava preparada para destruir os registos e todo o equipamento. Mas para que o fungo sobrevivesse sem ser detectado, Florey e alguns dos seus colaboradores resolveram espalhar esporos de *Penicillium notatum* nos forros das suas próprias roupas, na esperança de que algum dia pudessem começar tudo de novo.

Florey decidiu, então, que era altura de publicar os resultados das experiências. Foi no *Lancet* de 24 de Agosto que saiu o artigo “*Penicillin as a chemotherapeutic agent*” que tinha como autores todos os elementos da equipa, citados por ordem alfabética: Chain, Florey, Gardner, Heatley, Jennings, Orr-Ewing e Sanders. Era uma comunicação curta, ocupando duas páginas e que concluía assim: “*The results are clear-cut and show that penicillin is active in vivo against at least three of organisms inhibited in vitro. It would be a reasonable hope that all the organisms inhibited in high dilution in vitro will also be found to be dealt with in vitro*”.

Depois disto, Florey ficou à espera das reacções do meio científico, convencido de que atrairiam financiamento para o projecto. Enganou-se. O único acontecimento

desencadeado pelo artigo do *Lancet* foi a visita inesperada de Alexander Fleming, que apareceu na Dunn School a 2 de Setembro. É curioso registar o espanto de alguns elementos da equipa, nomeadamente de Chain, que estava convencido de que ele já tinha morrido há alguns anos. Fleming inteirou-se de tudo o que se estava a passar e regressou a Londres sem fazer comentários.

Para Florey tinha-se tornado claro que era necessário iniciar, rapidamente, as experiências no homem. Ele sabia que extrapolar para o organismo humano os resultados obtidos em ratos era arriscado, por existirem diversidades biológicas entre os mamíferos, que podiam implicar a inactivação enzimática da penicilina ou o aparecimento de efeitos tóxicos inesperados. Mas, para iniciar esta nova etapa, era indispensável aumentar a produção de substância activa para o dobro, ou seja, para 500 litros por semana, uma vez que a dose de 10 mg, eficaz no rato, correspondia no homem a 30 gr, aproximadamente 3.000 vezes mais. Heatley tentou resolver o problema concebendo recipientes cerâmicos rectangulares com dimensões semelhantes às de uma arrastadeira, fabricados especialmente para este fim. Na companhia de Florey, passou a véspera e o dia de Natal de 1940 a lavar e a esterilizar 100 destes recipientes, os quais, depois de semeados com esporos de *Penicillium notatum*, foram colocados na incubadora durante 10 dias. Começava assim, ainda que de forma muito artesanal, a produção de penicilina em quantidades suficientes para realizar os primeiros ensaios no homem.

O primeiro objectivo era o estudo da toxicidade e, para isso, foi necessário seleccionar um doente para a primeira experiência. Disso se encarregou um jovem clínico de Oxford, Charles Fletcher, que, a 17 de Janeiro de 1941, injectou 100 mg de penicilina endovenosa numa doente com uma neoplasia em fase terminal. Algumas horas depois, verificou-se uma reacção febril com calafrio a que Florey não atribuiu grande importância. Tratava-se, sem dúvida, de substâncias pirogénicas, o que reforçava a necessidade de purificar a penicilina, o que foi conseguido, pouco tempo depois, com a introdução da cromatografia.

A primeira administração de penicilina com objectivos terapêuticos foi feita a um polícia de 43 anos que tinha sido internado com uma sepsis estafilocócica com ponto de partida num furúnculo da comissura labial. Tratava-se de uma situação extremamente grave, com invasão do tecido celular subcutâneo da face que tinha atingido as órbitas, obrigando à enucleação do globo ocular esquerdo. A 12 de Fevereiro, foram injectados, por via endovenosa, 200 mg de penicilina e, posteriormente doses de 100 mg com intervalos de 3 horas. Nos dias que se seguiram, verificou-se uma melhoria espectacular com normalização da temperatura, diminuição da supuração dos abscessos drenados e regresso do apetite. Contudo, a reserva de penicilina disponível, esgotou-se, sendo necessário recuperá-la da

urina do próprio doente e, a partir do 5º dia, o tratamento teve de ser suspenso. No princípio de Março o estado clínico agravou-se e o doente morreu a 15 desse mês.

Este caso, sem ser um êxito, forneceu indicações indiscutíveis sobre a eficácia da penicilina. Por isso, logo que foi possível obter mais substância activa, os ensaios prosseguiram. Foram tratados mais 5 doentes, portadores de sepsis por estrepto ou estafilococo. Todos recuperaram completamente, à excepção de um deles que, quando já se encontrava apirético, faleceu em consequência da ruptura de um aneurisma micótico secundário à sepsis.

Estes resultados foram publicados no *Lancet* de Agosto de 1941, mas não eram ainda suficientemente conclusivos do ponto de vista estatístico. A prova irrefutável da eficácia da penicilina só viria 2 anos mais tarde com a publicação no *Lancet*, em 27 de Março de 1943, dos 187 casos de sepsis tratados por Florey em colaboração com sua mulher, Ethel.

Como é sabido, a história da penicilina não acaba aqui. Mas aqui acabam, isso sim, os primeiros episódios de uma aventura fascinante vivida por um punhado de investigadores que protagonizaram uma das mais fantásticas descobertas da história da Medicina. Graças a eles estava finalmente encontrada a "bala mágica" idealizada por Erlich: a penicilina, quando injectada, era capaz de curar infecções graves provocadas por um vasto leque de bactérias, sem lesar minimamente as células normais do organismo.

Contudo, toda esta história está recheada de acasos e acontecimentos fortuitos que não podem deixar de nos causar enorme perplexidade. Acasos que, como dizia Pasteur, "só favorecem os espíritos preparados". Mas, apesar de tudo, acasos, que mais parecem dádivas de um destino caprichoso que colocou nas mãos certas e no momento exacto a chave para a solução de enigmas que o Homem há muito tempo procurava desvendar.

Numa altura em que nos encontramos confrontados com problemas como o cancro e a SIDA, que têm resistido aos gigantescos programas de investigação realizados em todo o mundo, a história da penicilina e os passos que levaram à sua descoberta merecem, mais uma vez, ser recordados. Sente-se que estão para breve progressos científicos decisivos que permitirão curar as doenças que ameaçam a Humanidade. Mas será que, uma vez mais, estaremos à mercê de um ou vários acasos oferecidos aos homens, no local e no momento certo, por deuses desconhecidos? Só o futuro poderá dar resposta a esta pergunta.

Referências

- MacFarlane, Gwin. Howard Florey, The Making of a Great Scientist. Oxford University Press, Oxford, 1979.
- Williams, Trevor. Howard Florey, Penicillin and After. Oxford University Press, Oxford, 1984.