

André Gratia, pioneiro pouco conhecido da história dos antibióticos ¹

André Gratia, a little known pioneer of the history of antibiotics

Carlos Fioravanti ²

A história da penicilina está muito ligada ao médico escocês Alexander Fleming. Em setembro de 1928, Fleming observou que o crescimento de bactérias era inibido pela ação de fungos. Ele escreveu um artigo, publicado no ano seguinte, mas não conseguiu prosseguir no estudo da substância produzida pelo *Penicillium*. Em 1938, Ernest Chain, bioquímico da Universidade de Oxford, encontrou o artigo de Fleming e começou o desenvolvimento da penicilina, que foi inicialmente usada para tratar feridos em combate na Segunda Guerra Mundial, salvou milhões de vidas e se tornou um dos medicamentos mais usados do mundo.

Quatro anos antes de Fleming, no Instituto Pasteur da Bélgica, o médico André Gratia e suas colegas Bernice Rhodes e Sara Dath observaram o mesmo fenômeno: a inibição do crescimento de uma colônia de bactérias *Staphylococcus aureus* por fungos, que logo identificaram como *Penicillium*. Bernice Rhodes e Sara Dath foram provavelmente as primeiras mulheres cientistas associadas à descrição do fenômeno da antibiose; outras, do grupo de Oxford liderado por Howard Florey e Ernest Chain apareceriam apenas no artigo da Lancet de 1939 sobre a ação *in vivo* da penicilina.

O médico belga André Gratia (1893-1950) descreveu o resultado de suas observações em cinco artigos, dois deles publicados em 1924 e três em 1925 (Bernice é co-autora do primeiro e Sara Dath dos outros quatro), na *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de ses Filiales*, uma revista que havia sido criada em 1849 pela Sociedade de Biologia, ligada ao Instituto Pasteur de Paris. Os artigos, de menos de duas páginas, evidenciam a ação bacteriolítica “de certos bolores”, como eles dizem, sobre *Staphylococcus*. Os raros relatos sobre o trabalho da equipe belga indicam que Sarah Dath reuniu e selecionou fungos com ação mais intensa sobre bactérias e que Gratia usou uma substância produzida por uma variedade de *Penicillium*

¹ Este artigo integra uma pesquisa para um livro sobre a história da pesquisa científica sobre câncer no Brasil.

² Jornalista e pesquisador em história da medicina, Fellow do Reuters Institute for the Study of Journalism, Universidade de Oxford (2007) e Doutor em Política Científica e Tecnológica pela Unicamp (2010). Contato: chfioravanti@gmail.com

glaucum para tratar furúnculos, infecções de pele causadas por *Staphylococcus*.

Reproduzimos a seguir a tradução dos cinco artigos, três originais encontrados na Faculdade de Saúde da Pública da Universidade de São Paulo (USP) e os outros dois na Bibliothèque Interuniversitaire de Santé, Université Paris Descartes (Paris). Em seguida, comentários de outros pioneiros e dos desdobramentos da pesquisa de André Gratia.

(artigos e traduções)

André Gratia e Bernice Rhodes, “De l’ action lytique dès Staphylocoques vivants sur lês staphylocoques tués”, Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de sés Filiales 90 (1924): 640-42.

André Gratia e Sara Dath, “Propriétés bacteriolytiques de certaines moissures,” Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de sés Filiales 91 (1924): 1442-43.

André Gratia e Sara Dath, “Moissures et microbes bateriophages”, Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de sés Filiales 92 (1925): 461-62.

André Gratia e Sara Dath, “De l’action bacteriolytique dès streptothrix”, Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de sés Filiales 92 (1925): 1125-26.

André Gratia e Sara Dath, “A propôs de l’action bateriolytique de streptothrix”, Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de sés Filiales 93 (1925): 451.

Da ação lítica de *Staphylococos vivos* sobre *Staphylococos mortos*

**André Gratia
Bernice Rhodes**

Nós relatamos numa nota anterior (1*) que o princípio lítico staphylocócico adicionado a uma emulsão em caldo concentrado de *Staphylococos*³ mortos a 60°C, produzia, após algumas semanas em temperatura ambiente, uma clarificação perceptível. Esta ação do princípio lítico sobre microrganismos mortos, de fato bastante lenta e inconstante, é consistentemente acelerada se, junto com o princípio lítico, acrescentarmos traços de *Staphylococos vivos* às custas dos

³ Optei por um aportuguesamento mínimo nos nomes dos gêneros e espécies dos microrganismos, ignorando formas latinas talvez pouco usuais como *Staphylococcus* no singular e *Staphylococci* no plural, preferindo *Staphylococo* e *Staphylococos*, por exemplo.

quais ele pode se regenerar. Na realidade, nestas condições, ao contrário do que se poderia acreditar, não é o bacteriófago que dissolve os microrganismos mortos, mas sim os microrganismos vivos. Sem dúvida, visto se tratar de uma emulsão em caldo, a presença do princípio lítico é necessária para que se possa observar essa dissolução dos microrganismos mortos pelos vivos. Sem ele, estes últimos poderiam de fato se desenvolver sem entraves no caldo e mascarar, pela turbidez de sua própria cultura, a clarificação que eles próprios operaram. Mas quando, ao invés de utilizar emulsão em caldo, nos servimos de solução salina⁴, a presença do princípio lítico se torna supérflua, e a simples adição de traços de *Staphylocococ* vivos já clarifica em 24 a 48 horas mesmo uma emulsão bastante espessa de *Staphylocococ* mortos.

Pode-se ainda observar a ação lítica dos microrganismos vivos sobre os mortos, mesmo em caldo, se, ao substituir o bacteriófago por qualquer outro artifício que impeça os microrganismos vivos de se desenvolver e principalmente se utilizarmos tubos selados: em atmosfera confinada os *Staphylocococ* vivos não crescem, mas ainda assim dissolvem de forma bastante ativa os *Staphylocococ* mortos.

Não há uniformidade no comportamento de diferentes cepas de *Staphylocococ*. Algumas não realizam ou realizam mal a lise, e outras não se deixam dissolver, e até o presente, o melhor resultado foi obtido com a ação de um *Staphylocococ* branco V sobre um *Staphylocococ* dourado H.

Mesmo sendo bastante intensa, a clarificação jamais é completa, não que haja, como na lise transmissível, indivíduos resistentes que não se deixam dissolver, mas sim porque a dissolução não ultrapassa um certo estágio. Se examinarmos no microscópio uma emulsão clarificada, constata-se que os *Staphylocococ* mortos e dissolvidos são reduzidos ao estado de pequenos grânulos que, fato bastante curioso, *não fixam coloração de Gram*; sobra apenas um esqueleto Gram-negativo que os microrganismos vivos não podem dissolver. Se centrifugarmos este resíduo e o introduzirmos em emulsão em solução salina adicionada de *Staphylocococ* vivos, não ocorre clarificação.

A quantidade de *Staphylocococ* vivos necessária para efetuar a lise numa emulsão bastante espessa de *Staphylocococ* mortos é extremamente ínfima.

Introduzamos o equivalente a 1/100.000 de uma cultura em caldo de *Staphylocococ* vivos V, uma parte num tubo com 5 ml de solução salina, e outra parte num segundo tubo contendo 5 ml de uma emulsão espessa de *Staphylocococ* H mortos em solução salina. Depois de 4 a 5 dias, o segundo tubo está quase completamente clarificado. Se, nesse momento, fizermos semeadura sobre

⁴ Traduzi como "solução salina" o que no original aparece como "*eau physiologique*", literalmente 'água fisiológica' ou 'soro fisiológico'.

agar, ora com uma gota do primeiro tubo, onde os traços de micróbios vivos achavam-se em solução salina pura, e ora com uma gota do segundo tubo, onde os mesmos traços de *Staphylococos* vivos dissolveram a emulsão microbiológica morta, a primeira semente permanece estéril, enquanto que a segunda origina uma cultura bastante abundante de *Staphylococos* V. O microrganismo vivo encontrou, portanto, na emulsão microbiológica um meio de cultura⁵; ele se desenvolve neste meio dissolvendo os cadáveres dos micróbios mortos. Essa lise nos aparece como um simples fenômeno de nutrição, de autofagia microbiana, tal como exemplos encontrados entre as Leveduras. Nessa dissolução, de resto, os microrganismos mortos parecem ter um papel apenas passivo, não indicando que forneçam um co-fermento; na verdade importa pouco se eles tenham sido mortos por uma fervura prolongada ou por um aquecimento a 60°C.

A ação lítica de *Staphylococos* vivos sobre *Staphylococos* mortos é bastante demonstrativa também em meio sólido.

O agar mineral não convém à cultura de *Staphylococos*. Mas basta introduzir nesta uma emulsão espessa de *Staphylococos* H mortos para que o *Staphylococo* V encontre ali um alimento e possa se desenvolver. Inoculemos com o uso de uma suspensão bastante diluída de *Staphylococos* vivos a superfície de uma placa de Petri contendo uma mistura homogênea e opaca de agar mineral e *Staphylococos* H mortos, e veremos se desenvolverem pequenas colônias que dissolvem os micróbios mortos contidos na gelatina. Essa dissolução se faz graças a um produto difusível que, penetrando profundamente na gelatina e ultrapassando amplamente os limites das colônias, contorna estas com um halo de clarificação. Se nesse momento lavarmos a placa de Petri a fim de limpá-la da cultura, os vestígios de cada colônia aparecem como manchas claras sobre o fundo opaco da gelatina. Obtemos uma imagem cujo aspecto apresenta uma semelhança impressionante com as manchas de clarificação que o Bacteriófago deixa na superfície de uma cultura jovem sobre agar de um microrganismo vivo sensível.

(Instituto Pasteur de Bruxelas.)

(1*) C. R. de la Société de Biologie, 1º de dezembro de 1923, t. LXXXIX, p. 1171.

⁵ Para meios de cultura, “*gélouse*” em francês, há certa ambiguidade na sua tradução, podendo ser considerada qualquer meio gelatinoso de cultura, diferenciando-se basicamente dos meios em caldo concentrado (caldo bovino, etc.). O termo “*eau gélosée*”, usado por diversas vezes, pode se traduzir por “água gelosada” ou “gelatinizada”, não havendo nos textos indicação se o uso é de agar-agar ou outro gelificante. Quando achei mais próprio optei ora por traduzir como “agar”, ora simplesmente como “meio sólido/gelatinoso”, ou ainda “água gelatinizada”, visto haver casos de uso de água de torneira gelatinizada no texto.

Propriedades bacteriolíticas de certos bolores

André Gratia

Sara Dath

Numa nota anterior (1*), um de nós, em colaboração com B. Rhodes, relatou como certos *Staphylocococ*s introduzidos, no estado de traços, em emulsões em solução salina de *Staphylocococ*s mortos, podiam ali se multiplicar e produzir uma clarificação parcial, reduzindo os cocos mortos a finos grânulos sem coloração por Gram.

Persuadidos de que um tal fenômeno não era contingente, mas tinha, ao contrário, um significado real e geral, nós pesquisamos se outros microrganismos não possuíam propriedades líticas análogas. Com este fim, expusemos ao ar placas de Petri nas quais havia previamente sido disposta uma mistura opaca de meio de cultura gelatinoso a 2% e *Staphylocococ*s mortos. Entre as diversas colônias que surgiram nessas placas, algumas exerciam, ao se desenvolver, uma proeminente clarificação do meio. Tratava-se quase sempre, quando de sua ocorrência, de um pequeno bolor branco com características dos *Streptothrix*.

Transplantado para meio de cultura puro, esses bolores se desenvolvem apenas mediocrementemente, enquanto que, no meio contendo *Staphylocococ*s mortos, eles se multiplicam de forma intensa, e produzem uma clarificação completa do meio, que não se concentra apenas na área de concentração da cultura, mas transpondo amplamente os contornos desta, atingindo uma área que, em 36 a 48 horas, pode chegar a mais de 3 cm de largura.

Trata-se portanto de um fenômeno de nutrição se operando em favor de um agente eminentemente ativo e difundido que ainda se pode isolar. Introduzamos um pouco de *Streptothrix* num balão contendo uma emulsão espessa, em solução salina estéril, de *Staphylocococ*s mortos. No dia seguinte vê-se a formação de grandes flocos de bolor, “grãos” de *Streptothrix*, que se depositam no fundo do recipiente, enquanto que a emulsão microbiana se clarifica rapidamente e torna-se, após 36 horas, de uma limpidez cristalina. Se filtrarmos esta emulsão lisada, obtemos o princípio ativo separado do bolor, capaz de dissolver uma nova emulsão de *Staphylocococ*s mortos.

Inoculemos com *Streptothrix* uma série de emulsões, de espessuras iguais, feitas com soluções tampão de pH diferentes, entre 3,0 e 8,0. Após 36 horas, só se constata crescimento do bolor e clarificação da emulsão acima de pH 6,0, o pico de desenvolvimento se estabelecendo próximo a pH 7,0, ou seja, em pH neutro. Também não é de se surpreender que o fenômeno ocorra com mais clareza em emulsões de *Staphylocococ*s em água destilada.

A temperatura a que foram mortas as bactérias das emulsões é de pouca importância, e os resultados são bons tanto com *Staphylococcus* aquecidos a 60°C, 80°C ou 100°C. Enfim, fato altamente interessante, a lise também se opera de forma igualmente eficiente às custas de *Staphylococcus* vivos.

Ao acompanhar pelo microscópio os estragos realizados pelo *Streptothrix*, observa-se que os *Staphylococcus* primeiramente se inflam, depois se deformam, para se desagregar em seguida em destroços amorfos, se dissolvendo completamente por fim. No decorrer desse processo, a coloração da matéria microbiana certamente é diminuída, mas ela conserva sempre seu caráter Gram-positivo. A lise realizada pelo *Streptothrix* é portanto diferente daquela operada pelo próprio *Staphylococcus* que, como nós havíamos lembrado, é parcial e consiste numa redução dos cocos ao estado de esqueleto, não havendo mais coloração por Gram.

O *Streptothrix* ataca também outras cepas de *Staphylococcus* que nós experimentamos; ele dissolve ainda outros microrganismos, o bacilo piocianico especialmente; ele é, no entanto, inativo ante o *E. coli* e o bacilo de Koch.

O curioso fenômeno que acabamos de relatar, a cujo estudo damos prosseguimento, aproxima-se daquele recentemente descrito por Schiller (2*), sob o nome de “antagonismo microbiano induzido”, se dando entre microrganismos proteolíticos e microrganismos peptolíticos. Aliás, mesmo se tratando de uma verdadeira “bacteriofagia” no sentido etimológico da palavra, ele é essencialmente diferente do fenômeno de Twort-d’Hérelle. Ele deve, provavelmente, intervir na destruição das bactérias ao redor do planeta e representar um elo natural do ciclo da matéria viva.

(Instituto Pasteur de Bruxelas)

(1*) C. R. da Sociedade de Biologia, 25 de fevereiro de 1924, t. XC, p. 640.

(2*) Centralbl. f. Bakt. I. 1923. t. XCI, p. 60.

Bolores e microrganismos bacteriófagos,

André Gratia

Sara Dath

Numa nota anterior (1*), nós relatamos como alguns bolores, com as características dos *Streptothrix*, tinham a propriedade de cultivo em suspensões em solução salina ou água destilada contendo diversos tipos de microrganismos, como os *Staphylococcus* e o bacilo piocianico, produzindo nestas, ao se desenvolver, uma dissolução completa dos corpos microbianos presentes. Um grande número de microrganismos é igualmente sensível a esta ação, especialmente o *Vibrião da cólera*, diversas Bactérias saprófitas do ar e mesmo alguns Fungos; no entanto, a *E. coli* e o bacilo de Koch parecem lhe ser resistentes. Numa ampola

contaminada de enterovacina, nós encontramos uma variedade bastante ativa de *Streptothrix*, não apenas para as espécies já mencionadas como novamente para o *E. coli*, os Bacilos disentéricos, tífico e paratíficos. De uma cultura contaminada de carvão e completamente clarificada, nós retiramos uma variedade de *Penicillium glaucum* dissolvendo o Bacilo de Antraz. Ao expor placas de água de torneira gelatinizada a 2% e contendo uma suspensão de um microrganismo sensível como o do cólera, não só ao ar como também a outros meios como água de torneira, de esgoto, de vaso sanitário, etc., nós encontramos, entre as colônias ativas, além dos habituais *Streptothrix*, outros Bolores e também diversos Bacilos saprófitos, Gram-positivos e Gram-negativos. Como supúnhamos, trata-se de um fenômeno geral agindo em detrimento de um grande número de microrganismos saprófitos ou patógenos e cujos agentes podem ser bastante variados. Entre estes, no entanto, os *Streptothrix* parecem ser os mais difundidos e mais ativos. Além disso, paralelamente às pesquisas de Fisher já citadas na nossa nota anterior, é importante lembrar que Mouton cultivou amebas em meios contendo *E. coli*; também alguns micólogos, notadamente Vuillemin e Pinoy, estudaram Myxomicetes bacteriófagos que só podiam se desenvolver em meios contendo Bacilos fluorescentes ou piocianicos aos quais se agregam, levando-os sempre consigo, mostrando-se bastante difícil a sua separação.

A lise exercida pelos *Streptothrix* opera-se graças a um agente bastante ativo e de notável poder de difusão, que encontramos, separado do Bolor, nas emulsões microbianas dissolvidas e filtradas. Nestas, a bem da verdade, ele se acha bem enfraquecido, seja por se consumir enquanto age, seja por que os produtos da lise inibam sua ação posterior. Obtém-se, de fato, um princípio bem mais ativo a partir de culturas de *Streptothrix* em caldo concentrado. Se filtrarmos uma cultura como essa, que após várias semanas atingiu um desenvolvimento considerável, o filtrado dissolve rapidamente suspensões com grande número de microrganismos. O mesmo ocorre com o extrato filtrado que preparamos maceando os próprios Bolores em solução salina.

(Instituto Pasteur de Bruxelas)

(1*) C. R. de la Société de Biologie, 6 de dezembro de 1924, t. XCI, p. 1442.

Da Ação Bacteriolítica do *Streptothrix*,

**André Gratia
Sara Dath**

Em notas anteriores nós relatamos como alguns microrganismos e, especialmente, bolores do gênero *Streptothrix*, têm a propriedade de se desenvolver em

suspensões aquosas contendo culturas vivas ou mortas de diversos micróbios (*Staphylococcus*, vibrião colérico, etc.), produzindo nestas suspensões uma dissolução completa, que ocorre graças a um princípio ativo com alto poder de difusão.

Procuramos precisar as condições ótimas para a ocorrência desse fenômeno. Como já relatamos aqui, este se manifesta igualmente bem em meio sólido ou líquido e exige um ambiente neutro ou de preferência alcalino.

Outro fator de grande importância é o oxigênio. O *Streptothrix* sendo bastante aeróbio, se desenvolve e efetua a lise de maneira muito melhor em recipientes de fundo chato do que em balões. No entanto, mesmo sendo o oxigênio necessário ao crescimento do bolor e à elaboração do princípio ativo, este não parece ser nem minimamente indispensável à lise propriamente dita, realizada pelo princípio ativo elaborado previamente. A intensidade da lise é, em grande medida, independente da densidade das suspensões. Todavia, para unificarmos nossas experiências, introduzimos conteúdo recolhido de um tubo de cultura de 20 horas em meio gelatinoso comum, em 25 ml de água de torneira esterilizada, e em 15 ml de água de torneira gelatinizada a 3% estéril, operando portanto em meio líquido e sólido respectivamente. Quando se introduz na água gelatinizada quantidades de microrganismos bastante consideráveis, de forma a lhe conferir uma opacidade comparável à do leite ou do soro cozido, pode-se notar que a lise comporta duas etapas claramente distintas: em torno da zona de clarificação completa que se expande por áreas bem maiores que a de concentração do bolor, observa-se uma segunda zona concêntrica, se distinguindo da primeira por um limite bastante claro, e onde o meio de cultura, sem estar transparente, já não está mais opaco, mas sim translúcido. A lise completa é portanto precedida por uma ação de preparação que encontramos, de resto, no meio líquido, onde se observa que a dissolução dos microrganismos é antecedida por uma aglutinação e estufamento dos corpos microbióticos.

A lise está sujeita às condições de maturação dos bolores. Não é de forma alguma indiferente se a semeadura se faz com uso de micélios ou de esporos. Encontramos um princípio bastante ativo em culturas velhas em caldo concentrado de *Streptothrix*, abundantemente esporuladas e exalando forte odor de mofo, enquanto que o extrato concentrado de uma cultura mais jovem, não esporulada e inodora, era inativo.

A adição de soro normal, enquanto estimula o crescimento do *Streptothrix*, inibe a lise de maneira clara, porém passageira.

O princípio ativo, cuja natureza ainda nos escapa, liquefaz apenas muito lenta e mediocrementemente a gelatina e o soro coagulado; por outro lado, ele parece aprofundar consideravelmente a desintegração dos corpos de microrganismos, cujos produtos da dissolução não são detectáveis pelo reagente de biureto. Os

filtrados provenientes da dissolução de quantidades com frequência enormes de microrganismos de alta toxicidade, como o vibrião colérico, podem ser injetados sem risco em animais em doses consideráveis. Emulsões espessas de *Staphylococcus virulentus*, altamente hemolíticos, coagulando energicamente o plasma oxalatado e fibrinolizando os coágulos, dão, após dissolução, num filtrado fracamente hemolítico e sem nenhuma atividade coagulante ou fibrinolítica. Mesmo com esse fraco índice de produtos microbiológicos ativos, as emulsões de micróbios dissolvidos pelo bolor possuem propriedades vacinatórias. Uma injeção única subcutânea de 10ml de filtrado colérico em cobaia não determina nenhuma lesão visível mas faz aparecer, 10 dias depois, aglutininas e sensibilizações anticoléricas, e protege o animal contra a inoculação de vibriões, matando os invasores em poucas horas. Obtém-se resultados semelhantes na vacinação de coelhos com uso de filtrado de *Staphylococcus* dissolvidos.

(Instituto Pasteur de Bruxelas)

Sobre a ação bacteriolítica do *Streptothrix*

**André Gratia
Sara Dath**

Numa série de notas anteriores (1*), nós relatamos e estudamos a notável ação bacteriolítica que os bolores do gênero *Streptothrix* exercem sobre diversos microrganismos. Nessas ocasiões, nós recordamos diversos exemplos já conhecidos de antagonismo microbiano similares, mas dentre os quais nenhum manifestava tamanha intensidade de ação comparável à do *Streptothrix*. Sobre esta, não havíamos visto nenhuma menção na literatura recente, até que, procurando mais fontes sobre a biologia dos *Streptothrix*, encontramos, brevemente descritas, numa monografia recente e bastante documentada de R. Lieske (2*), algumas experiências semelhantes às nossas.

Assim como nós, este autor relata que esporos de *Streptothrix* inoculado sobre água gelatinizada tornada opaca por emulsões de microrganismos diversos, se desenvolviam e produziam uma clarificação completa do meio, se estendendo esta amplamente além dos contornos da cultura. Como nós, ele também não conseguiu obter a lise do bacilo da tuberculose.

Discordamos do autor quando ele declara que o fenômeno é independente do pH do meio. Constatamos, pelo contrário, que a lise não ocorre em meio ácido; ela exige, na verdade, um meio neutro ou de preferência alcalino.

O autor também não obteve sucesso para isolar um extrato ativo, ao contrário de nós. Além disso, ele não realizou a lise em meio líquido, e não pôde,

consequentemente, reconhecer que as culturas dissolvidas e filtradas, estando desprovidas de toxicidade, possuem propriedades vacinatórias. Isso não nos impede de reconhecer a primazia de Lieske no que concerne este fenômeno que pensávamos ser os primeiros a observar.

(Instituto Pasteur de Bruxelas)

(1*) C. R. de la Sociéte de biologie, 1924, t, XCI, p. 1442; 1925, t. XCII, p. 461 e 1125,

(2*) Rudolf Lieske. Morphologie und Biologie der Strahlenpilze, Leipzig, 1921.

Outros pioneiros

A capacidade dos fungos eliminarem bactérias tinha sido observada antes por outros médicos ou cientistas que não puderam, ou não conseguiram, trabalhar mais intensamente em suas pesquisas. Em 1871, o médico John Scott Burdon-Sanderson relatou que o *Penicillium* inibia o crescimento de bactérias e o cirurgião Joseph Lister, observou que as bactérias não cresciam em amostras de urina, contaminadas com bolor, usando o caldo de *Penicillium glaucum* para tratar uma enfermeira do King's College Hospital, em Londres, cujos ferimentos não respondiam a qualquer antisséptico. Também na Inglaterra, o médico William Roberts, estudou esse fenômeno durante quatro anos, de 1870 a 1874, e notou que as culturas de *Penicillium glaucum* eliminavam as colônias de bactérias; quase não havia contaminação em contato com o bolor. Logo depois, em 1875, o físico John Tyndall, demonstrou a ação antibacteriana do *Penicillium* na Royal Society de Londres, o centro da ciência da época.

Na França, em 1877, Louis Pasteur e Jules Joubert, observaram que microrganismos do ar poderiam inibir o crescimento do bacilo de antraz sobre urina previamente esterilizada. Há indicações de que eles podem ter identificado como *Penicillium notatum* a espécie que produziu esses efeitos, mas o trabalho não prosseguiu, talvez por não o considerarem relevante: a contaminação era um fenômeno comum na época.

Ninguém chegou tão longe quanto o médico francês Ernest Duchesne. Quando estava no exército, Duchesne observou que os soldados que cuidavam dos cavalos mantinham as selas em quartos escuros e úmidos para que os fungos crescessem e depois os usavam para tratar os ferimentos causados pelas selas nos cavalos. Intrigado, ele começou a estudar os possíveis efeitos do caldo de cultura de *Penicillium glaucum*. Em um teste relativamente simples, viu que o fungo eliminava as culturas de bactérias *Escherichia coli*. Depois, injetou o extrato em porquinhos-da-índia, na época usados como animais de experimentação. Os porquinhos haviam recebido uma dose normalmente letal de bacilos da febre tifóide, mas sobreviviam se recebessem também um extrato de *Penicillium glaucum*; a penicilina que Fleming extraiu do *Penicillium notatum* não tinha efeito sobre o bacilo tifóide.

Duchesne apresentou sua tese de doutoramento com esses resultados em 1897 à Faculdade de Medicina de Lyon. Foi o primeiro estudo formal a considerar o potencial terapêutico dos extratos de fungos, mas não foi muito longe. Duchesne enviou a tese ao Instituto Pasteur, sem qualquer retorno. Ele sabia que precisava fazer mais pesquisas para detalhar as propriedades antibióticas do *Penicillium*, mas o serviço médico do exército não permitiu; ele não conseguiu se conectar com quem pudesse continuar o que ele tinha começado e sua descoberta caiu no esquecimento. Em 1904, Duchesne contraiu tuberculose – a mesma doença que havia causado a morte de sua esposa, um ano antes, e mais tarde seria em grande parte resolvida com antibióticos produzidos a partir de fungos – morreu em 1912, aos 37 anos. Seu trabalho permaneceu desconhecido até 1946, quando reapareceu no jornal *Le Progrés Medical*.

Gratia, que muitos historiadores da ciência consideram o pai dos antibióticos, não conseguiu continuar o trabalho, nem motivar outros a continuarem o que ele começara. Ele adoeceu e quando voltou ao laboratório, em 1929, os *Penicillium* que haviam levado àqueles resultados tinham todos morrido (não há qualquer explicação sobre por que Sarah ou qualquer outro assistente não teriam cuidado devidamente do fungo).

Gratia fez o discurso de abertura de entrega do título de *Doutor Honoris Causa* conferido a Fleming pela Universidade de Liege, em 1945. No ano seguinte, Fleming foi entrevistado pela rádio belga. O que falou foi registrado em texto que indica que Fleming não tinha se esquecido de quem observou antes dele o antagonismo entre fungos e bactérias: “Não posso deixar de mencionar outro bacteriologista belga, meu bom amigo André Gratia. Eu o menciono pela especial razão que, a não ser pela circunstância, ele poderia muito bem ter sido o descobridor da penicilina. Em 1926 ele notou que um bolor aparentemente destruía e dissolvia certas bactérias. O bolor que ele tinha devia ser o *Penicillium notatum* e a substância ativa deve ter sido a penicilina, mas, como a cultura não foi preservada, nunca saberemos”.

Os autores de uma nota na *Lancet* sobre o trabalho pioneiro de Gratia observaram que Jules Bordet, mentor de Gratia e ganhador do Nobel de 1919, provavelmente teria dito a ele: “Meu garoto, o problema é que você não batizou sua criança!” Não faltou só um nome para a substância do fungo capaz de deter o crescimento de bactérias. Gratia não teve a mesma sorte que Fleming e seu trabalho não prosseguiu. Em 1938, Chain impressionou-se com o longo e detalhado artigo de Fleming, que se destacou entre as cerca de 200 referências bibliográficas sobre a ação de fungos e leveduras sobre bactérias, que ele pretendia investigar na Escola de Patologia Sir William Dunn na Universidade de Oxford. Portanto, o trabalho que Fleming iniciara em Londres não teria avançado se Chain não o tivesse encontrado e se não quisesse continuá-lo.

Chain também teve sorte. Quando estava procurando o fungo que pudesse produzir penicilina, Chain conheceu M. L. Campbell-Renton, ex-assistente de George Dreyer, professor e presidente da Escola de Patologia Sir William Dunn. Justamente naquele dia ela levava um frasco com o mofo de Fleming que ela cultivava desde 1929, a pedido de Dreyer, que antes de morrer, alguns anos antes, havia pedido para ela cultivar o fungo, que ainda poderia ser útil, a despeito de alguns experimentos com vírus que ele havia feito sem sucesso. Chain pretendia estudar a penicilina, mas não fazia ideia de que houvesse qualquer amostra de *Penicillium* em Oxford e muito menos de que aquela amostra fora obtida do mofo do próprio Fleming.

Em 1928, no mesmo ano em que Fleming observou a ação do *Penicillium* sobre bactérias em seu laboratório em Londres, o costa-ricense Clodomiro Picado Twight registrou em seu caderno de anotações o efeito antibiótico do *Penicillium*, atestado por meio de experimentos realizados no Instituto Pasteur de Paris, onde então trabalhava. Ele publicou quatro anos mais tarde os resultados de pesquisa que demonstravam a ação do *Penicillium* sp sobre as bactérias do gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Botânico, zoólogo e toxicologista, Clorito Picado, como era chamado, entrou para a história mais por seus estudos sobre venenos de cobra e pelo desenvolvimento de soros contra picadas de cobras do que por seu trabalho com fungos, já que aparentemente não há registros de que outros cientistas tenham se interessado por continuar seu trabalho nessa área.

--

Agradeço à equipe da biblioteca da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (USP), que facilitou o acesso a uma coleção da *Comptes Rendu* e escaneou os artigos disponíveis, e a Lúvia Fioravanti, que encontrou os artigos complementares na Bibliothèque Interuniversitaire de Santé, Université Paris Descartes (Paris).

Nota: Os artigos originais de André Gratia foram traduzidos por Luiz Guilherme Ferreira Zamaro. Contato: lgfzamaro@yahoo.fr

Referências

- Friedman M, Friedland G. *As dez maiores descobertas da medicina*. São Paulo: Companhia de Bolso, 2006.
- Gratia A, Rhodes B. De l' action lytique des Staphylocoques vivants sur les staphylocoques tués. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de ses Filiales*, 1924, n(90): 640-42
- _____, Dath S. Propriétés bacteriolytiques de certaines moisissures. *Comptes Ren-*

des Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de ses Filiales, 1924, n(91): 1442-43.

_____, _____. Moissures et microbes bacteriophages. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de ses Filiales*, 1925, n(92): 461-62.

_____, _____. De l'action bacteriolytique dès streptothrix. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de ses Filiales*, 1925, n(92): 1125-26.

_____, _____. A propôs de l'action bacteriolytique de streptothrix. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie et de ses Filiales*, 1925, n(93): 451.

Gratia JP. André Gratia: A Forerunner in Microbial and Viral Genetics. *Genetics*, 2000, n(156): 471-476.

Scoville C, Brouwer CC, Dujardi M. Nobel chronicle: Fleming and Gratia. *The Lancet*, 1999, n(354): 258.

Data de Recebimento: 18/04/2013

Data de aprovação: 02/08/2013

Conflito de Interesse: Nenhum declarado

Fonte de Fomento: Nenhum declarado