



Pioneros de la Microbiología: Louis Pasteur

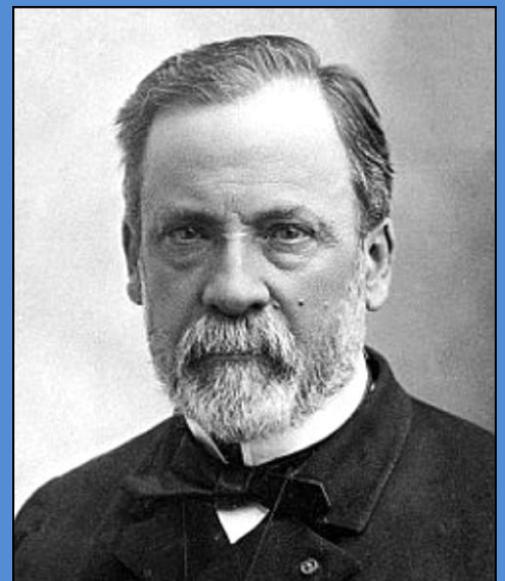
TRABAJO FIN DE GRADO

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

JAVIER AGUDO TOSCANO

Julio de 2016





PIONEROS DE LA MICROBIOLOGÍA: LOUIS PASTEUR

TRABAJO FIN DE GRADO

Autor: JAVIER AGUDO TOSCANO

Grado en Farmacia. Facultad de Farmacia

Departamento de Microbiología y Parasitología

Universidad de Sevilla

Tipología de trabajo: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

**Tutores: CRISTINA SÁNCHEZ-PORRO ÁLVAREZ y ANTONIO
VENTOSA UCERO**

Sevilla, 4 de julio de 2016

Índice

1.	RESUMEN	1
2.	INTRODUCCIÓN	1
3.	OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.....	3
4.	METODOLOGÍA.....	3
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
5.1.	Los inicios de Louis Pasteur	5
5.2.	De la materia y la luz al estudio de la vida.....	6
5.3.	Estudio de las fermentaciones.....	10
5.4.	Pasteur, padre de la Enología	14
5.5.	Refutación de la teoría de la generación espontánea	15
5.6.	Teoría microbiana de la infección.....	19
5.7.	La enfermedad de los gusanos de seda.....	21
5.8.	El cólera de las gallinas o peste aviar.....	22
5.9.	El carbunco de las ovejas.....	23
5.10.	La fiebre puerperal y otras enfermedades	26
5.11.	La vacuna de la rabia	28
5.12.	El Instituto Pasteur y su últimos años.....	32
6.	CONCLUSIONES	35
7.	ANEXOS	38
7.1.	Frases celebres.....	38
7.1.	Hechos destacados en la vida de Louis Pasteur	38
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	39

1. RESUMEN

Este trabajo recoge los hallazgos y descubrimientos más importantes de la vida de Louis Pasteur, los cuales le llevaron a ser considerado uno de los pioneros de la Microbiología. Nació en el seno de una familia humilde cerca de la frontera franco-suiza en el año 1822. Educado en la creencia de que el trabajo y la voluntad permiten alcanzar la meta deseada, Louis Pasteur se convirtió en un estudiante de Química y Física ejemplar; esto, unido a la inteligencia, curiosidad y brillantez que le acompañaba le llevaron rápidamente a increíbles investigaciones.

Descubrió la disimetría molecular, considerándose el primer observador de la estereoquímica. El estudio de la materia y la luz le llevó al estudio de los microorganismos que producían dichas sustancias, y con ello, al estudio de la vida. Largos años de estudio de las fermentaciones del vino o la cerveza, así como sus estudios sobre la putrefacción y los esfuerzos para rebatir y refutar la teoría de la generación espontánea de la vida, le convirtieron en el creador de la teoría microbiana de la infección, y con ello, demostrar el origen de las enfermedades infecciosas.

Pasteur aisló numerosos microorganismos y descubrió la prevención y cura de las enfermedades que estos causaban, como el carbunco de las ovejas, la peste aviar o la rabia. Las repercusiones en el plano científico, médico, social y económico que supuso en su época y en generaciones posteriores le hacen ser considerado como el padre de la Microbiología y uno de los hombre que más ha hecho por la humanidad, algo que hace que su legado siga vivo.

Palabras clave: Pasteur, rabia (rabies), Microbiología (Microbiology), generación espontánea (spontaneous generation), pasteurización (pasteurisation).

2. INTRODUCCIÓN

Louis Pasteur es un personaje que todos y cada uno de nosotros hemos estudiado desde pequeños, o al menos, hemos oído hablar de él. Personalmente siempre he sentido mucha curiosidad por la historia y por las biografías de aquellos personajes ilustres, trasladarme a la época en la que vivieron, conocer su contexto socio-cultural, y por un momento, tratar de pensar y sentir aquello que a ellos les motivaba.

La posibilidad de realizar un estudio acerca de uno de los más grandes científicos de todos los tiempos me motivaba y de ahí que rápidamente decidiera postular a este Trabajo de

Fin de Grado de Farmacia. Las fuentes de las que hemos dispuesto se basan en las diferentes biografías y escritos de Pasteur. La información es tan abundante que esperamos haber conseguido condensar los aspectos más importantes de su vida, así como los descubrimientos que le han llevado a ser reconocido como el iniciador de la era de la Microbiología.

La estructura de este trabajo comienza introduciéndonos al joven Pasteur como un estudiante con gran capacidad de trabajo, voluntad, y por qué no decirlo, brillantez. Su entorno familiar le empujó a ser uno de los más destacados estudiantes y llevar el esfuerzo y el trabajo por bandera el resto de su vida. Al tratarse de un trabajo de Microbiología, se ha avanzado en la vida de Pasteur siguiendo un orden cronológico de sus investigaciones y descubrimientos, tratando en todo momento, de salpicar el texto con detalles acerca de su personalidad e introduciendo aquellos acontecimientos más destacados de su vida personal.

Pasteur, como todo el mundo sabe, fue químico, sin embargo no habría tenido la trascendencia histórica que ha tenido sin su irrupción en la medicina. Sus descubrimientos van desde la observación de la estereoquímica (estudios del ácido tartárico) a sus estudios sobre las fermentaciones, en los cuáles hizo importantísimos hallazgos que consiguieron impulsar a la industria del vino, la cerveza o el vinagre, e introducir uno de los mayores conceptos de la Microbiología, la teoría microbiana de la enfermedad. Esta teoría microbiana fue la continuación del trabajo de grandes investigadores, desde Fracastoro, quien habló por primera vez de que existían enfermedades epidémicas producidas por unas pequeñas partículas invisibles, a Antonie van Leeuwenhoek, que observó aquellos pequeños "animálculos" con su microscopio, y pasando por Lazzaro Spallanzani, que inició la experimentación de destrucción de microorganismos a partir del calor. Es este el más grande legado de uno de los mejores investigadores que ha tenido la ciencia y la medicina científica. La refutación de la teoría de la generación espontánea, el estudio que demostró no sólo el origen de las enfermedades infecciosas, sino la prevención y curación de las mismas, el carbunco, la peste aviar, la rabia...

El establecimiento de la teoría microbiana contribuyó a que la humanidad realizara el tránsito de la alquimia, la quiromancia y la medicina especulativa medieval, a la auténtica medicina científica.

Gran cantidad de los avances que hemos vivido en el último siglo y medio en materia de medicina preventiva, higiene, medicina social, salud pública, vacunación, atención al enfermo, son herencia directa de los descubrimientos y aportaciones de Pasteur que se detallarán en las próximas páginas.

Por último, se introduce la creación del Instituto Pasteur, institución en la que Pasteur pasó sus últimos años y que desde entonces ha permitido a muchísimos investigadores llevar a cabo su formación científica, mantener vivo el espíritu del maestro y llevar impregnado de por vida en su actitud de trabajo y de estudio, el recuerdo de Pasteur, convirtiéndole en un ser inmortal.

3. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

El objetivo de este trabajo es el de revisar aquellos aspectos de la vida de Louis Pasteur que lo han llevado a ser uno de los "*pioneros de la Microbiología*".

Se pretende guiar al lector a través de los descubrimientos más importantes de su vida, de una forma clara y resumida, sin tratar de profundizar en los detalles de cada una de las investigaciones debido a la extensión del texto, pero tratando de ensalzar las dimensiones de sus investigaciones, tanto desde el punto de vista humano como microbiológico.

También se pretende destacar aquellos valores que hicieron de nuestro personaje ser lo que fue y llegar a conseguir aquello que se propuso. Valores como la voluntad, el trabajo, o la humildad salpican los textos procedentes de Pasteur y recogidos en este trabajo.

Por tanto, el objetivo es múltiple:

- **Realizar un recorrido cronológico de la vida de Louis Pasteur.**
- **Describir y detallar los avances e investigaciones que realizó.**
- **Remarcar sus valores, y su personalidad científica.**
- **Proyectar las repercusiones sociales, médicas y económicas que tuvieron sus descubrimientos.**
- **Dejar constancia de la herencia científica que nos legó.**

4. METODOLOGÍA

El título de esta revisión bibliográfica es "*Pioneros de la Microbiología: Louis Pasteur*".

Partiendo de este título, las palabras clave principales atendiendo al título de esta revisión bibliográfica han sido: Pasteur, rabia (rabies), Microbiología (Microbiology), generación espontánea (spontaneous generation), pasteurización (pasteurisation).

Como palabras secundarias se han utilizado: carbunco (anthrax), fermentación (fermentation), fiebre puerperal (milk fever), peste aviar (fowl pest), Instituto Pasteur (Pasteur Institute), pebrina, estereoquímica (stereochemistry).

Para la traducción se ha utilizado el diccionario online:

Linguee - Diccionario de español-inglés : <http://www.linguee.es/espanol-ingles>

Las fuentes de información utilizadas más importantes han sido fundamentalmente libros y revisiones biográficas, obtenidas a través de la web y en libros a mi alcance. La metodología seguida para la redacción de este trabajo ha consistido en la recopilación de textos que recogen la vida de Pasteur.

La principal biografía procede de su nieto Vallery-Radot (1939) que recopila cartas y escritos del propio Pasteur, que permiten complementar de una manera muy directa la descripción de sus experimentos. Es una biografía muy extensa y con muchos detalles del día a día de Pasteur y la relación con su entorno personal y científico.

Otros libros hacen mención a estas biografías y nos dan una descripción más "divulgativa" de su obra. A su vez, se han consultado diferentes enciclopedias, que permiten establecer más fácilmente una línea cronológica de los aspectos más importantes de la vida de Pasteur.

La consulta de diferentes escritos contrastados a través de la web y la consulta incluso de blog científicos nos ha permitido complementar esta información con anécdotas e información que hiciese el trabajo más ameno.

Una vez leída y revisada toda la documentación, se ha tratado de dar un carácter científico al texto, ya que al tratarse de un trabajo de Grado de Farmacia, entendemos que es lo más adecuado.

Para la elaboración de los diferentes apartados se ha seguido una línea cronológica enmarcada por la investigación en esos años de Pasteur, por tanto, son sus investigaciones las que han marcado la estructura y metodología del trabajo.

Se ha tratado de describir los aspectos más importantes de cada uno de ellos, extrayéndose de los diferentes textos y condensando muchos capítulos de su biografía, pero a la vez, conservando e introduciendo transcripciones literales del propio Pasteur.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Son muchísimas las biografías escritas sobre Louis Pasteur, y amplísima la cantidad de datos y detalles acerca de su vida, los cuáles han dado para extensos escritos que nos hacen entender y compartir lo que fue la vida del prolífico científico. Se antoja complicado poder resumir toda su obra en este proyecto, sin tratar de perderse en los más interesantes aspectos y detalles de su vida, así como en sus logros como químico y físico.

Comenzaremos, por tanto, describiendo el contexto socio-cultural en el que nació y creció Pasteur, con el objetivo de entender cuáles eran sus valores, como se forjó esa mentalidad innovadora y como alcanzó esa gran capacidad para el trabajo. A continuación, iremos desgranando aquellos descubrimientos y aportaciones más importantes de su vida, tratando de detallar en la medida de lo posible como, mediante la aplicación del método científico, Pasteur logró obtener los resultados de sus investigaciones.

5.1. Los inicios de Louis Pasteur

Louis Pasteur nació el 27 de diciembre de 1822 en la ciudad de Dôle en Francia, cerca de la frontera Suiza, en una casa de la calle de los Curtidores, donde su padre tenía una curtiduría. En la época en que nació Pasteur, en esta zona aún se conservaba y pervivía ese estilo de vida gremial heredado de un pasado feudal. Una tierra en la que el trabajo realizado por la unión de los pequeños queda hecho, por encima del paso de monarcas y dirigentes, y donde la comunidad tiene una importancia vital.

Nos situamos en un época comprendida entre la Revolución Francesa (1789) y el inicio de la Gran Guerra (1914), época de grandes revoluciones sociales, el auge del proletariado europeo, y la formación de una clase burguesa que se expande por Europa, gracias al imperialismo y la alianza con el movimiento obrero (Nueva Enciclopedia Sopena, 1953).

El padre de Louis Pasteur se llamaba Jean-Joseph, y fue oficial del ejército de Napoleón (derrotado en Waterloo en 1815), y por tanto, un patriota; lemas como “La guardia muere, pero no se rinde” o “Viva la nación!” debieron acompañar al pequeño Pasteur en su educación familiar. Su madre, Jeanne-Stéphanie Roqui, aportó a la familia una pequeña herencia que motivó el traslado a Arbois, no muy lejos de Dôle donde la familia volvió a montar otra curtiduría. Pasteur tuvo tres hermanas (Jeanne Denis, Jeanne Emilie y Josephine), con las que siempre mantuvo correspondencia, y ningún hermano varón. Aquí en Arbois, Pasteur recibió su educación escolar y quedó fijada definitivamente la vivienda familiar. Su entusiasmo y su

vocación, hasta los trece años, sólo le inclinaba hacia el dibujo, la vecindad le consideraba un artista y gozaba de cierta merecida fama, son muchos los retratos familiares y de amigos que se conservan de un adolescente Pasteur (Figura 1).

Sin embargo, planes más ambiciosos pasaban por la cabeza de aquel ex-oficial para su hijo, y el pequeño Louis, con tan sólo 16 años, partió a Paris a la Escuela Normal para continuar sus estudios de bachillerato. En esta ocasión, la voluntad fue vencida por la sensibilidad, y Louis no resistió estar alejado de su familia y sus raíces, volviendo de nuevo a Arbois,



Figura 1. Retratos al pastel. Jean-Joseph (*Pasteur*) y Jeanne-Stéphanie Roqui (*Pasteur*)

donde terminó el curso de retórica. Continuó sus estudios en Besanzón a fin de prepararse de nuevo para los exámenes de la Escuela Normal de Paris, esperando esta vez no caer en la nostalgia, y donde finalmente ingresó cuarto tras repetir sus exámenes, ya que en su primer intento se le otorgó el acceso con un puesto que él no consideró ventajoso (Montiel, 2010).

Su vida en Paris, en la Escuela Normal, ya estaba orientada al estudio y al trabajo, "Una vez que uno se ha hecho al trabajo, ya no se puede vivir sin él", escribía a su familia. Rondaba ya el año 1843 y Pasteur estaba entregado a la ciencia, estaba tan entusiasmado que paralelamente a sus estudios, acudía a la Sorbona, donde dedicaba horas al trabajo de laboratorio químico y acudía a las clases magistrales de Dumas y Balard (profesor y farmacéutico, descubridor del bromo), importantes personajes que influyeron en su dedicación y orientación a la química, a la par que amigos, protectores y maestros (Espasa-Calpe, 1966).

Su carrera científica y profesional acababa de comenzar.

5.2. De la materia y la luz al estudio de la vida

Situar a Pasteur en este marco social e histórico de la Francia del siglo XIX, se nos hacía importante para que el lector entienda "el caldo de cultivo" en el que Pasteur creció, y como ello acompañado de los valores de su familia, y la dedicación al trabajo de la misma, llevó a que el joven Louis tuviera ese entusiasmo y deseo por conocer, siendo la voluntad uno de los

principios que siempre le acompañó en su vida. Era un joven reflexivo, sencillo, algo tímido y con una gran atracción por las grandes biografías de los sabios y hombres más ilustres, y sobre todo, trabajaba sin descanso.

En estos primeros años Pasteur estaba dedicado al estudio del ácido tartárico y el ácido paratártarico. El ácido tartárico era una sal depositada en forma de costra o tártaro en los barriles y corchos durante la fermentación de la uva, que había sido descubierta en 1769 por el químico Carl Wilhelm Scheele. El ácido paratartárico, en cambio, desconcertaba a los químicos de la época como Gay Lussac, el cual lo comparó con el ácido tartárico tradicional y le encontró propiedades bioquímicas idénticas, propuso denominarlo ácido racémico (del nombre latino *racemus*, racimo de uvas) (Maestre, 2010).

Por otra parte, Berzelius se percató de que tenía el mismo peso atómico que el ácido tartárico y la misma composición molecular, denominándolo ácido paratartárico e indicando que los dos compuestos se componían del mismo número de átomos, pero diferían en la solubilidad. (Maestre, 2010).

Por último, otro de los estudiosos del tema, Jean Baptiste Biot (inventor del polarímetro) en 1815 había observado que ciertos compuestos de naturaleza orgánica, como ciertas soluciones de azúcar, pueden rotar el plano de polarización de la luz (Figura 2).

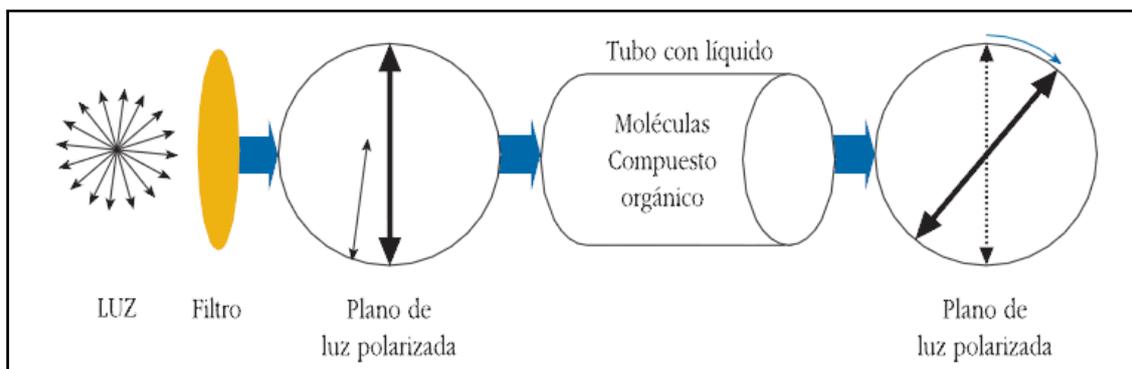


Figura 2. Rotación del plano de polarización de la luz por ciertos compuestos orgánicos descubierto por Biot (Maestre, 2010)

Encontró también que el grado de rotación es una medida directa de la concentración de la solución. Las sustancias capaces de rotar el plano de luz polarizada, se designaron como “ópticamente activas”. Biot estudió también el ácido tartárico y observó que desviaba hacia la derecha la luz polarizada. A ese ácido le dio el nombre de dextrógiro.

Pasteur también se percató de cómo, con la ayuda de aparatos de polarización, se puede observar que ciertos cristales de cuarzo hacen girar a la derecha el plano de la luz polarizada, y otros, a la izquierda; y que existen sustancias orgánicas naturales, como el azúcar,

cuyas soluciones, colocadas en uno de esos aparatos de polarización, hacen girar a la derecha el plano de polarización, y otras como la esencia de trementina y la quinina, a la izquierda. Por eso, se da a este fenómeno el nombre de polarización rotatoria (Maestre, 2010).

Durante la investigación con "sus cristales", se produjeron muchos cambios en la vida de Pasteur, que lo llevaron a crecer y ocupar puestos de responsabilidad, debido a su incipiente y brillante carrera. En 1845 Pasteur se licenció en física, y en 1846 aprobó las oposiciones a cátedra de física.

En 1848 se casó con Marie Laurent, hija del Rector de la Universidad de Estrasburgo, la cual actuó como asistente en sus investigaciones científicas durante el resto de su vida y con la que tuvo cinco hijos (Jeanne -1850-, Jean Baptiste -1851-, Cecile -1853-, Marie Louise -1858-, y Camille -1863-). Tan solo Marie Louise y Jean Baptiste vivieron hasta adultos, el resto murieron de pequeños a causa del tifus, lo cual motivó siempre a Pasteur en su lucha contra las enfermedades (<https://www.geni.com/people/Louis-Pasteur/>).

Estando de descanso en Arbois, recibió la comunicación de su nombramiento como profesor de Física en el colegio de Tournon. Pidió ayuda a J. B. Dumas, pero es Balard quien se fija en Pasteur y le ofreció un puesto en la Escuela Normal, donde era encargado de curso, incorporándose en 1846 a su laboratorio. Comenzó su trabajo como profesor agregado de ciencias físicas en la Escuela Normal cuando tenía 24 años. En 1847 Pasteur trabajó como profesor en el Liceo de Dijon. En este mismo año defendió su tesis en física y en química, logrando el doctorado en ciencias (Nueva Enciclopedia Sopena, 1953).

A comienzos de 1848 se produce en Francia la caída de la monarquía y los difíciles comienzos de la república. El 21 de mayo de 1848 murió su madre en Arbois. Su afectado padre y hermanas desearon que Louis volviera a casa. No obstante Pasteur, pese a las dificultades del momento, logra concentrar todas sus energías en sus investigaciones. Pasteur, conocedor de los trabajos de polarización de la luz y de los estudios de cristalografía que hemos comentado, se le ocurrió, partiendo de la base de las propiedades del cuarzo, estudiar la polarización de la luz en otros cristales como precisamente el tártaro (Nueva Enciclopedia Sopena, 1953).

En 1848, Pasteur llevó a cabo un estudio sistemático de los cristales de los ácidos tartárico y paratartárico, buscando una correlación entre la diferencia de polarización de ambos cristales y su eventual asimetría. Pasteur comenzó por estudiar los cristales de tártaro que desvían la luz polarizada hacia la derecha. Los examinó cuidadosamente y los separó con pinzas. Observó que una de las caras de los cristales es más alargada, lo que les da una forma

asimétrica comparable a los cristales de cuarzo. Luego, estudió los cristales de ácido paratartárico, y observó que los constituyen dos cuerpos diferentes, ambos asimétricos; pero unos son cristales orientados a la derecha, y otros, orientados a la izquierda. Pasteur, con toda su dedicación, separó los distintos tipos de cristales y preparó una solución con cada elemento aislado. Los cristales derechos, idénticos por completo a los de ácido tartárico, desvían la luz a la derecha. Los cristales izquierdos desviarían la luz a la izquierda (Maestre, 2010).

Por tanto, Pasteur encontró que, al observar bajo el microscopio los cristales de ácido racémico (ácido paratartárico), éstos eran de dos formas, una de ellas idéntica a los cristales del ácido tartárico y la otra su imagen en espejo. **Una solución con proporciones iguales de los dos cristales era ópticamente indiferente (neutra), y no hacía girar el plano de la luz polarizada en ninguna dirección** (Figura 3).

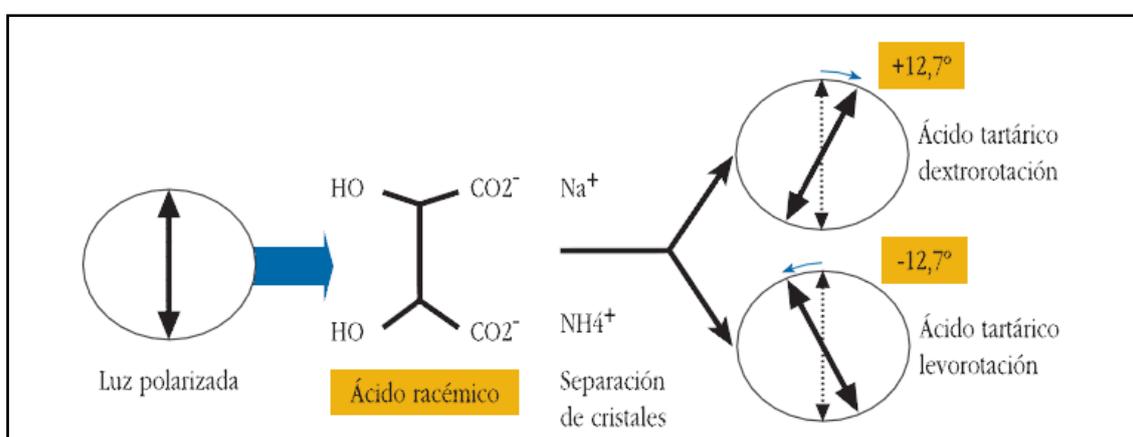


Figura 3. Soluciones equimoleculares de cristales separados tienen la misma, pero opuesta, actividad óptica (Maestre, 2010)

Pasteur había resuelto el problema que tanto interés suscitaba entre los químicos del momento, y los principios de la disimetría habían quedado fundamentados. Pasteur definió que había objetos materiales que, colocados ante un espejo, dan una imagen que se les puede superponer, y el reflejo de otros puede no coincidir aunque reproduzca fielmente todos los detalles. Al describir este fenómeno, Pasteur definió lo que 35 años más tarde llamará Kelvin "quiralidad", del griego khéir (mano), considerándosele como el primer químico en observar y describir la *estereoquímica* (del griego *stereos*, sólido).

Durante estos años, sus estudios llevaron a Pasteur a consagrarse como uno de los más reputados químicos. Pasó a ocupar interinamente la plaza de profesor de Química de Estrasburgo, nombrándosele en propiedad en 1852. En 1854 se le confirió el cargo de Decano en la Facultad de Ciencias de Lille, encargándosele la organización de la reciente creación de dicha facultad. Fue durante este periodo, y continuando sobre sus estudios de estereoquímica,

cuando Pasteur se encontró con otros interrogantes: ¿por qué el ácido racémico aparecía en algunos lugares y en otros no? Pasteur sospechó que intervenían agentes microscópicos, lo que aumentó su interés por los microorganismos que había encontrado responsables de la fermentación alcohólica (de la remolacha más concretamente) (Vallery Radot, 1939).

De esta manera, de un interrogante a otro, Pasteur empezó a interesarse por el mundo microscópico, y a partir de entonces se dedicó al estudio de la vida, llevando sus investigaciones a lo que a la postre sería el nacimiento de la era de la Microbiología. En este año de 1855 Pasteur se adentraría en el estudio de las fermentaciones trasladándose en 1857 de nuevo a Paris, esta vez como director científico de la Escuela Normal.

5.3. Estudio de las fermentaciones

Las fermentaciones han estado ligadas desde la antigüedad a fuerzas misteriosas que originaban la transformación de las propiedades de un material, y era éste el razonamiento científico de los siglos XVIII y XIX. No tenía ningún sentido plantear una teoría vitalista para la fermentación, un proceso que podía ser explicado con facilidad empleando sencillas reacciones químicas. Simple y convincente, casi irrefutable en aquella época, pero sin dar ninguna oportunidad a los microorganismos.

Hacia 1850 las fermentaciones y putrefacciones eran consideradas reacciones debidas a la presencia de los agentes químicos llamados "*fermentos*", que en la fermentación alcohólica eran conocidos como la levadura de la cerveza. Así, según el renombrado químico sueco Berzelius, el fermento, o catalizador, como él los denominaba, actuaba en la iniciación de la reacción pero sin participar en ella. Consideraba a la levadura como un material orgánico amorfo, precipitado durante la fermentación de la cerveza con apariencia de vida vegetal simple, pero sin constituir vida (Sevillano, 2010).

Liebig, químico alemán, considerado uno de los pioneros en el estudio de la química orgánica, insistía en que a menudo durante la fermentación se producía amoníaco, que él erróneamente atribuía a la descomposición de la levadura (realmente y especialmente en aquella época, era consecuencia de la presencia en la fermentación de cultivos bacterianos). Pero el adoctrinamiento de los maestros de la nueva ciencia terminaría cuando Pasteur se adentró en el estudio de las fermentaciones a mediados de 1855 (Alou, 2010).

La sospecha de la implicación de la vida en la fermentación comenzó con el estudio de la actividad óptica del alcohol amílico, un producto secundario que aparecía durante la destilación, y ya en su introducción en la "*Memoria sobre la fermentación llamada láctica*" (1857), Pasteur escribía que encontraba que el grupo molecular del alcohol amílico estaba

demasiado distante del azúcar para que, si derivaba de éste, retuviese una disimetría en la ordenación de sus átomos. La confirmación definitiva la obtuvo cuando un estudiante de la Facultad de Ciencias de la localidad acudió a verle, ya conocido por su interés en los procesos industriales, y le solicitó que ayudara a su padre a solucionar los fracasos que se estaban produciendo en la fabricación del alcohol. Pasteur aceptó y sometió a análisis el contenido de las tinas estropeadas, llegando a la conclusión de que presentaba una **considerable cantidad de ácido láctico en vez de alcohol**. Posteriormente, examinó el sedimento de las tinas con una fermentación satisfactoria y el de las tinas donde ésta había fallado. Al comparar los dos sedimentos observó una clara diferencia. En los sedimentos procedentes de tinas que habían producido alcohol había grandes glóbulos de levadura mientras que en las tinas donde se había producido ácido láctico se apreciaban unos glóbulos mucho más pequeños que los de la levadura de cerveza. Tal y como refleja en la memoria, Pasteur se propuso establecer que al igual que existía un fermento alcohólico, la levadura de cerveza, o simplemente "*fermento*" según Liebig y Berzelius, y que se encontraba siempre que un azúcar se desdoblaba en alcohol y ácido carbónico, **debía de existir también un fermento particular, una levadura láctica, que se encontrara presente siempre que el azúcar se convirtiera en ácido láctico** (Sevillano, 2010).

La demostración la halló, en primer lugar a partir de unas manchas de una sustancia gris apenas perceptible que eran disimuladas por las de albúmina. En segundo lugar, probó que la fermentación es correlativa a la nutrición y vida de un nuevo microorganismo láctico, y en tercer lugar, Pasteur sustituyó la albúmina desnaturalizada, que consideró una simple condición, por sales que no enturbien la solución azucarada como lo hacía el carbonato terroso y las albúminas. En este medio transparente podía obtener un cultivo en cantidad suficiente y puro, que rápidamente originaba la producción de ácido láctico. Con ello podía evitar fermentaciones paralelas debidas a la presencia de otros microorganismos contaminantes (Figura 4) (Alou, 2010).

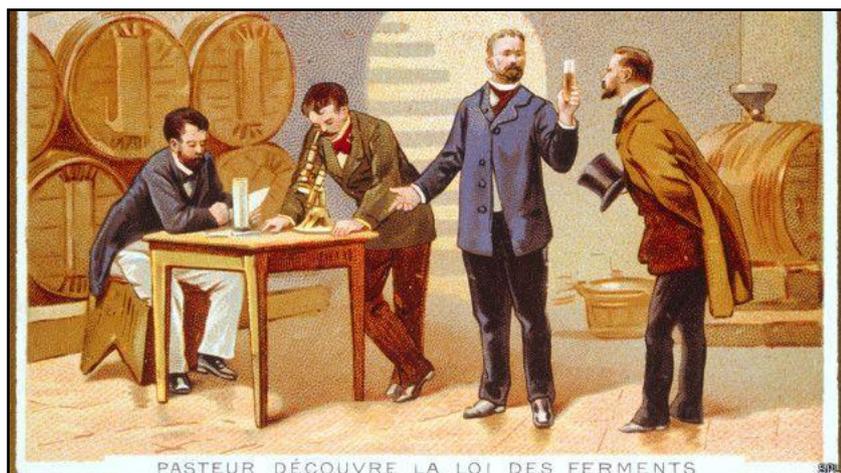


Figura 4. Pasteur estudiando la fermentación. (Chromo Chocolat d'Aiguebelle)

Pasteur estaba completamente sumido en sus investigaciones, y este afán de superación y trabajo se demuestra en el hecho desgraciado que acaeció en este año 1859. Su hija Jeanne muere. La desgracia le agobia, le asume en un profundo dolor, pero no detiene sus audaces estudios sobre estas fermentaciones, ni sus vivas polémicas con Liebig: "Prosigo con entusiasmo los estudios sobre la fermentación, que tienen gran interés por su ligazón con el impenetrable misterio de la vida y de la muerte" (Vallery Radot, 1939).

Un año más tarde, expuso la demostración práctica de la intervención de la vida microbiana en el terreno de la fermentación con su obra "Mémoire sur la fermentation alcoolique" (Pasteur, 1860) (Figura 5).

Pasteur se propuso hacer crecer a la levadura en un medio artificial que contuviera azúcar, sales minerales y amoníaco, el compuesto que Liebig considera originado en la descomposición de la levadura. Finalmente, en 1860 consiguió una fermentación en un medio artificial, en el que la cantidad de alcohol producida era paralela a la multiplicación de la levadura. La pequeña cantidad de levadura introducida en el medio originaba la fermentación del azúcar mientras se desarrolla la misma levadura, y se multiplicaba empleando el carbono del azúcar y el nitrógeno del amoníaco (Pearson, 1942).

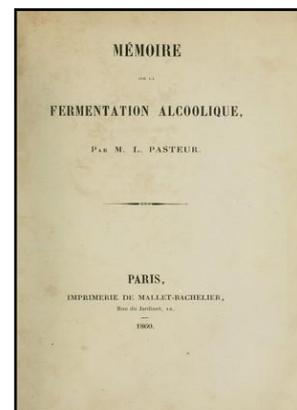


Figura 5. *Publicación de Mémoire sur la fermentation alcoolique (Pasteur, 1860)*

Por otra parte, la investigación sobre la **fermentación butírica** le proporcionó la base de estudio de la vida en ausencia de aire. Pasteur observó que las bacterias de la fermentación butírica se hacían inmóviles en la periferia de la gota mientras que continuaban moviéndose en el centro de la misma, como si estuvieran tratando de evitar el oxígeno. Pasteur las denominó formas anaeróbicas, relacionando hábilmente la fermentación butírica con la putrefacción. Supuso que en un medio artificial, expuesto al oxígeno, el fermento butírico solo podría vivir y multiplicarse en su interior, si otros microorganismos "contaminantes", introducidos junto con el fermento butírico, facilitaban la vida anaeróbica, esto le llevó a escribir "*Investigaciones sobre la putrefacción*" (Pasteur, 1863).

De esta manera, se definió el concepto de fermentación como un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, siendo el producto final un compuesto orgánico. Louis Pasteur la describió como la *vie sans l'air* (la vida sin aire).

Pasteur, a continuación, se centró en **estudiar la producción del vinagre**, convencido de la participación de la vida en ésta, y consiguió producir vinagre transfiriendo muestras de la

madre del vinagre (delgada capa que aparecía en la superficie del líquido y que contenía *Mycoderma aceti*, actualmente conocido como *Acetobacter aceti*, Figura 6) a una solución en el laboratorio. Encontró al microorganismo presente en este vinagre madre sobre las virutas de madera que eran empleadas en los procesos de fabricación y estableció los requerimientos nutricionales

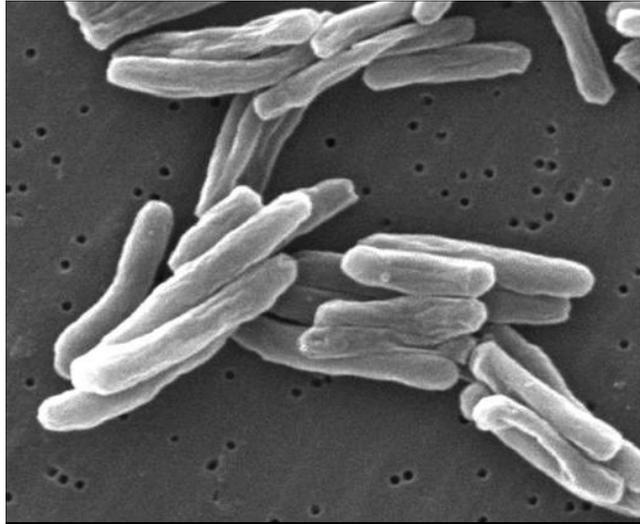


Figura 6. *Acetobacter aceti* (Science Photo Library)

básicos del microorganismo, las condiciones de transformación idóneas en cuanto a temperatura y acidez y la necesidad de oxígeno, sin ser excesivo, necesaria para un correcto funcionamiento del proceso. Sus principios en base a sus investigaciones fueron claves para la industria de la época (Vallery Radot, 1939):

1. El vino previamente calentado, no se altera nunca. La elevación de la temperatura destruye a *Acetobacter aceti*, tanto el que podía contener el vino como el que podía estar presente en el aire.

2. El vino calentado pero expuesto al aire, puede alterarse, ya que aunque se hayan matado los microorganismos de *Acetobacter aceti* del propio vino, no se impide a los que pueden estar en suspensión en el aire que caigan al vino y crezcan en él.

3. El agua alcoholizada pura no se acetifica nunca, aunque los microorganismos en suspensión puedan caer en ella o aunque el líquido pueda tomarlos del polvo de los vasos que ha tocado. Estos microorganismos son infecundos porque no tienen a su disposición nutrientes adecuados.

4. El vino, en una botella llena y acostada, no se acetifica nunca. El aire bien puede entrar por los poros del tapón, pero el vino, tinto o blanco, siempre contiene principios oxidables, materias colorantes, que se apoderan poco a poco del oxígeno, sin dejarlo a disposición del microorganismo *Acetobacter aceti* que el vino puede contener y que en efecto contiene con frecuencia. Cuando una botella está de pie, las condiciones de la oxidación son muy distintas: los microorganismos de la superficie están rodeados de aire.

Por sus orígenes ligados al mundo del vino y como consecuencia de que a Pasteur no le gustaba la cerveza, los mayores avances los proporcionó en torno al primero; publicó estudios que aportaban amplios conocimientos sobre los factores que afectaban al sabor y apariencia

del vino, y sus cualidades nutritivas. En cambio, con la cerveza únicamente estudió cómo prevenir que se estropeará, pero no como mejorarla.

5.4. Pasteur, padre de la Enología

Con el estudio de la prevención de las enfermedades del vino o de la cerveza, Pasteur nos legó **la pasteurización**, un método de conservación que mantenía intactas las propiedades aromáticas de los vinos y cervezas. En 1865, en plena etapa de estudio de las fermentaciones y de la generación espontánea, Pasteur fue invitado por Napoleón III a pasar unos días en la corte, lo que aprovechó para pedirle que estudiase el problema del deterioro del vino, hecho que ocasionaba un grave perjuicio para el comercio francés (Salvat Editores, 1950).

Analizando muestras de vinos, Pasteur observó la presencia de *Acetobacter aceti*, implicado en la formación de ácido acético por oxidación del alcohol, y relacionó rápidamente su presencia con la tendencia del vino a acetificarse. Del mismo modo, la presencia de otras alteraciones, como el amargor, debían estar producidas por contaminación de organismos extraños, y de esta forma fue capaz de predecir el aroma del vino con la simple observación del sedimento y establecer que una fermentación saludable se caracterizaba por la presencia de glóbulos redondos, mientras que una fermentación que comenzaba a alterarse contenía glóbulos que se alargaban indicando una fermentación láctica (Sevillano, 2010).

Pasteur insistió que las actividades de un microorganismo determinado están condicionadas por las características físico-químicas de su ambiente, por lo que aún el propio microorganismo puede desencadenar productos indeseables si las condiciones de la fermentación no están del todo controladas.

Pasteur se preguntó qué es lo que ocurría con el vino que envejecía normalmente en ausencia de microorganismos productores de alteraciones y cómo podía controlarse el proceso de añejamiento. Pasteur aclaró que el oxígeno era perjudicial porque el aire estimulaba el crecimiento de ciertos microorganismos que lo contaminan. Sin embargo, si el aire se encuentra libre de microorganismos, el oxígeno puede tener una acción beneficiosa, librando al vino de sabor ácido y áspero y haciéndolo adecuado para la bebida a la par que hace precipitar algunas materias colorantes y le brinda el color del buen vino cuando tiene el grado adecuado.

Pasteur contribuyó a resolver el problema de las alteraciones del vino demostrando que era posible eliminar los contaminantes que se encontraban mezclados con la levadura. Era

esencial evitar introducirlos durante o después del proceso de fabricación y destruirlos si éstos se habían introducido. Con el control de las operaciones técnicas podía reducirse la entrada de microorganismos, pero no podía prevenirse del todo, por lo que se hacía necesario un método que permitiera destruir a aquellos que se hubieran introducido en el líquido fermentado, sin alterar las propiedades o modificar los aromas del vino. Una vez que ensayó sin éxito el uso de antisépticos, se decantó por el uso del calor como agente estabilizador. Conocía el efecto del calor sobre los microorganismos y el efecto potenciador de un medio ligeramente ácido.

De esta forma descubrió que temperaturas por debajo de 55 °C, en ausencia de oxígeno y durante un breve periodo de tiempo, eran suficientes para eliminar a los microorganismos y conservar el vino. El aroma no tenía que afectarse si este proceso se realizaba cuando el oxígeno estuviera completamente agotado de la botella. A este procedimiento se le denominó **pasteurización**. En este punto tienen sentido la frase célebre de Pasteur en su memoria "Estudios sobre el vino, sus enfermedades, causas que las provocan y nuevos procedimientos para su conservación y envejecimiento", donde revela que " el vino es la más saludable y la más higiénica de todas las bebidas" (Alou, 2010).

Pasteur también dedicó grandes esfuerzos al estudio de la **filoxera**. La filoxera está causada por un insecto de procedencia americana, que llegó a Francia a través de viticultores que importaban cepas americanas entre 1832 y 1840. Utilizó como insecticida el sulfocarbonato de potasio, sin riesgo para la planta y además aportaba sustancias fertilizantes (<http://barricayvino.blogspot.com.es/2007/11/pasteur-y-el-vino.html>).

5.5. Refutación de la teoría de la generación espontánea

Sus investigaciones le condujeron a abordar y rebatir, de forma contundente, el controvertido asunto de la generación espontánea de la vida microbiana. En este apartado pretendemos analizar la respuesta dada por Pasteur a los naturalistas de la época, la crítica a los argumentos mantenidos por éstos en defensa de la teoría de la generación espontánea y el impacto decisivo de sus investigaciones sobre el protagonismo microbiano en la infección.

La concepción clásica de la abiogénesis (generación espontánea de la vida, término acuñado por el biólogo Thomas Huxley) sostenía que la vida se generaba por la descomposición de las sustancias orgánicas. Poner en cuestión la generación espontánea era poner en tela de juicio la razón, los sentidos y la experiencia (Maestre, 2010).

Como se comentó en el apartado anterior, entre 1835 y 1850 los químicos de la época, como Gay-Lussac, Berzelius y Liebig, afirmaban que la fermentación era producida por la desintegración de la materia orgánica. Pasteur diseñó un conjunto de experiencias de laboratorio rigurosas. Todas ellas tenían como objetivo demostrar que “la putrefacción y la fermentación se deben a la actividad vital de los microorganismos que no fueron originados por generación espontánea, sino por microbios, semejantes a ellos mismos” (Vallery Radot, 1939).

La primera pregunta que Pasteur debió resolver era si existían microorganismos en el aire que pudieran justificar el crecimiento en las infusiones que habían sido previamente sometidas al calor.

Para ello, puso en marcha una serie de experimentos consistentes en filtrar el aire sobre un algodón soluble en alcohol y éter. Pasteur construyó un complicado aparato consistente en una máquina que aspiraba el aire, unida a tubos con algodón. Se aspiraba el aire a través del algodón y luego se intentaba ver los seres vivos retenidos en el algodón. Las partículas depositadas en el fondo podían ser observadas fácilmente al microscopio. Pasteur encontró que había bastoncillos (microorganismos), afirmando que “estas simples manipulaciones permiten reconocer que existe en el aire común un número variable de corpúsculos cuya forma y estructura indica que son organizados”. A continuación, Pasteur preparó infusiones de materia orgánica que colocaba en matraces de vidrio y las calentaba hasta la ebullición para librarlas de microorganismos. Si cerraba los cuellos de los matraces de vidrio a la llama, las infusiones permanecían translúcidas, sin que hubiera indicios de crecimiento de microorganismos. Si los rompía, se enturbiaban y observaba que contenían microbios. Al romper el cuello de los matraces y penetrar el aire, éste transportaba microorganismos capaces de crecer en las infusiones.

Pasteur preparó un recipiente con una infusión de agua y proteínas (albúmina) y conteniendo aire calcinado, observó que este recipiente cerrado permanecía con su contenido inalterado a pesar de probar con variaciones de lugar y de temperatura. Observó que si después de transcurridas unas semanas se introducía en su interior algodón cubierto de polvo obtenido por la filtración del aire, rápidamente se poblaba de microorganismos. Por tanto, la materia albuminoide resultaba ser el alimento y no la causa de los microorganismos. Estos microorganismos procedían del exterior y se encontraban diseminados en el aire de manera desigual (Pearson, 1942).

A Pasteur se le ocurrió entonces estudiar el aire a varias alturas, realizando sus experimentos con matraces en diversas condiciones ambientales, observando que a medida que la experiencia se repetía a mayor altura, era menor el número de matraces que resultaban enturbiados por el crecimiento de microorganismos.

Por aquella época, el viejo profesor Balard apareció un día en el laboratorio de Pasteur. Pasteur le comentó al viejo profesor, que no veía la manera de tener juntos aire y caldo hervido sin que aparecieran esos pequeños seres vivos. Balard le propuso una manera de poner el caldo en el matraz, hervirlo y después disponer la boca del matraz de modo que no pudiera penetrar el polvo en él, pero que permitiera entrar el aire. Tomaron uno de aquellos matraces redondos, le añadieron caldo y luego ablandaron y estiraron el cuello hasta formar un tubito delgado y curvo, dejando el extremo abierto. La ingeniosa solución tuvo éxito y los matraces manipulados de esta manera permanecían sin signos de crecimiento durante un largo periodo de tiempo, ya que los microorganismos quedaban retenidos con el polvo en los recodos del tubo.

Pouchet, que era el oponente más firme de Pasteur, siguió con la controversia durante años hasta que la Academia de Ciencias decidió crear una comisión para resolver definitivamente el asunto de la generación espontánea.

La comisión se reunió en el laboratorio de Chevreul en el Museo de Historia Natural y Pasteur acudió con sus matraces, algunos modificados de acuerdo con las sugerencias de su amigo Balard, los conocidos matraces de cuello de cisne. Se trataba de idear un tipo de experiencia capaz de permitir que los líquidos contenidos en el matraz (previamente calentados) pudieran entrar en contacto con el aire pero no con los microorganismos que allí se encontraban.

Pasteur introdujo sus infusiones en matraces y, con la ayuda de una llama, estiró el cuello de vidrio de estos dándoles formas diversas, pero sin cerrarlos del todo, de modo que el aire pudiera penetrar en su interior. Luego calentó los recipientes y aguardó a que se enfriasen. Estas infusiones, aún estando en contacto con el aire que penetraba por el cuello estirado del matraz, se mantenían inalteradas. Pasteur consiguió demostrar ante la comisión que, al abrir los matraces normales de cuello recto, el crecimiento es mayor en los lugares más transitados que en los sitios elevados. Por el contrario, ningún matraz con cuello de cisne presentaba turbidez (signo de crecimiento de microorganismos), sino que todos ellos permanecían en las condiciones iniciales por largos periodos de tiempo: la forma del matraz retenía el polvo y los microorganismos en su largo cuello, evitando que penetrasen a su

interior. Cuando se tumbaban o agitaban los matraces, permitiendo que la infusión entrara en contacto con el polvo y los microorganismos, el crecimiento de éstos se producía rápidamente (Figura 7) (Maestre, 2010).

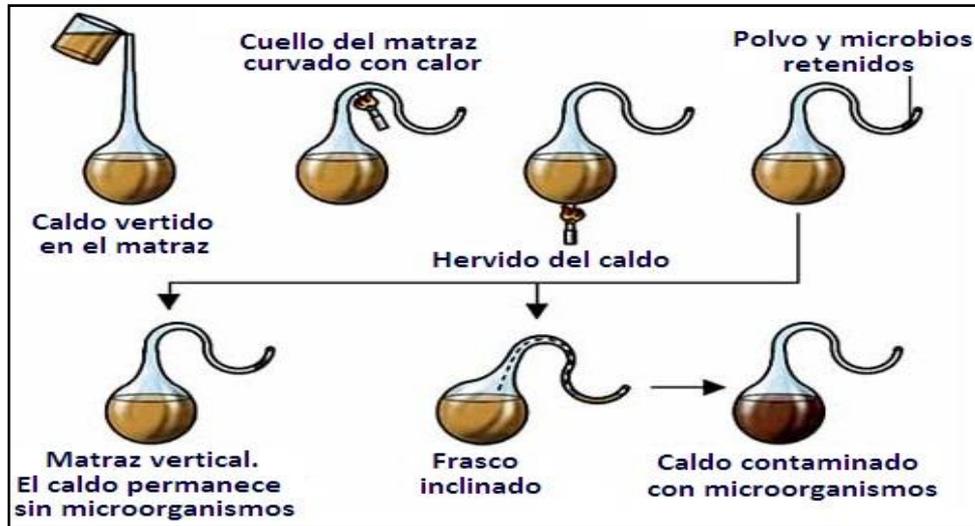


Figura 7. Experimento de Pasteur con el matraz de cuello de cisne (Emaze presentations)

Surgieron diferentes réplicas a la teoría de Pasteur, entre otros, Henry Charlton Bastian, joven médico inglés miembro de la Royal Society desde 1868, el cual reavivó la polémica al aportar datos que parecían favorecer la hipótesis de la generación espontánea. Según su hipótesis, la acidez impedía el desarrollo de la vida y, por tanto, era necesario neutralizar esa acidez para que se diesen las condiciones adecuadas para la generación espontánea.

El físico inglés John Tyndall y el propio Pasteur pusieron en entredicho el supuesto experimento del Dr. Bastian encontrando una diferencia crucial, la temperatura a la cual se calientan las infusiones en sus ensayos es mayor que la utilizada en los estudios de Bastian. Nace así, la necesidad de esterilizar siempre a altas temperaturas.

John Tyndall, confirmó los hallazgos de Pasteur, y además, demostró la gran resistencia al calor de las esporas bacterianas (previamente descubiertas por Ferdinand Julius Cohn) e ideó un método de esterilización fraccionado (Maestre, 2010).

El progreso de la Microbiología y el nacimiento de la teoría microbiana de la infección quedaba así definitivamente expedito.

5.6. Teoría microbiana de la infección

En este apartado, hacemos un breve paréntesis para tratar de recoger el impacto que tuvo la teoría microbiana de la enfermedad en diferentes sectores de la medicina y las aplicaciones que diferentes e ilustres personalidades del mundo científico le dieron a la misma. De esta manera queremos hacer notar la repercusión que tuvo en el mundo médico las investigaciones que hasta la fecha había aportado (Figura 8).

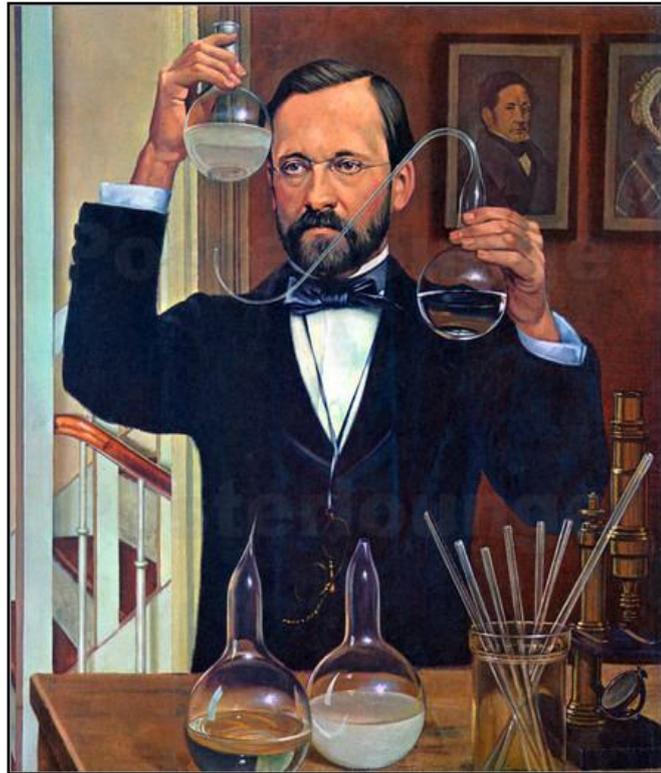


Figura 8. Pasteur en sus investigaciones (Thom)

En trabajos que se extendieron desde 1857 a 1876, Pasteur convenció al mundo

científico de que todos los procesos fermentativos son los resultados de la actividad microbiana, demostrando que cada tipo de fermentación iba acompañado de un tipo específico de microorganismo, muchos podían ser reconocidos por las condiciones que favorecían su desarrollo. Además, se reconocía que una persona sana podría ser portadora de microorganismos y contagiar a otras provocando su enfermedad.

El mejor ejemplo de ello fue el caso de la fiebre puerperal, en la que Semmelweis reconoció que las manos de médicos, estudiantes en prácticas y comadronas eran el vehículo de contagio, estableciendo en la maternidad de Viena una regla estricta que obligaba al personal sanitario a lavarse las manos en una disolución de cal clorada antes de proceder al examen interno de las pacientes. El resultado fue espectacular y la tasa de mortalidad de las parturientas descendió a sólo el 1%.

En 1867, dos años más tarde de que L. Pasteur ideara el proceso de destrucción de las bacterias conocido como “pasteurización”, J. Lister como iniciador de la antisepsia, utilizó el ácido fénico para pulverizar la sala de operaciones con el fin de destruir los microorganismos que infectaban el campo operatorio y aplicaba curas de pomadas fenicadas para el tratamiento de heridas infectadas. Con ello, consiguió reducir la mortalidad operatoria, debida

principalmente a gangrena y septicemia, en más del 40%. Poco después, E. Von Bergman introdujo la esterilización mediante vapor, tratando de eliminar totalmente la viabilidad microbiana e implantando su práctica habitual tanto para los guantes y ropas del cirujano y sus ayudantes como para el instrumental quirúrgico. Por tanto, la aplicación de la antisepsia y la asepsia consiguieron vencer a la infección quirúrgica y reducir extraordinariamente la mortalidad debida a ella (Parker, 1993).

Todos estos hechos jugaron un papel importante en la actitud de los médicos hacia la consideración de que algunas enfermedades de humanos podían deberse a microorganismos.

Se hacía necesario probar, que el organismo patógeno no sólo se encontraba presente de forma constante en la enfermedad, sino que podía ser aislado y reproducir la enfermedad al inocularlo en otro animal. Esta prueba final fue aportada brillantemente por Robert Koch y Louis Pasteur. A lo largo de cuatro años Koch realizó un estudio especial sobre el carbunco, estudiando detenidamente los repetidos exámenes de sangre y tejidos de animales enfermos, y observó en ellos la presencia constante de ciertos tipos de bacterias. Aisló el microorganismo y lo inyectó en ratones y conejos produciendo en ellos una afección similar. En 1876 R. Koch dio a conocer los resultados de su estudio, en los que se demostraba el ciclo de vida del bacilo del carbunco y se probaba la capacidad de los cultivos de este microorganismo para producir la enfermedad (González, 2010).

L. Pasteur, en trabajos acerca del carbunco independientes de los de R. Koch, apoyó las conclusiones de éste y aportó pruebas irrefutables de cómo las enfermedades contagiosas de los seres humanos y de los animales se deben a microorganismos vivos. Sus vacunas para el carbunco y el virus de la rabia serían la cima de sus convicciones científicas, asuntos que trataremos de manera más detallada en apartados posteriores.

La denominada “mentalidad etiopatológica”, tuvo sus más brillantes contribuciones en tres obras fundamentales:

- La **“Teoría de los gérmenes”** de **L. Pasteur**, que estableció definitivamente el origen microbiano de la enfermedad infecciosa (González y Calvo, 2005).
- Los famosos **“Postulados de Koch”** para poder afirmar científicamente que un determinado microbio es el causante de una determinada enfermedad (González y Calvo, 2005).
- Los **“Postulados de Klebs”**, según los cuales la enfermedad es siempre infección, es decir, la expresión de un combate entre el organismo y el

microorganismo infectante, por lo que el cuadro clínico depende de su peculiaridad biológica (González y Calvo, 2005).

Posteriormente, Paul Ehrlich postuló la existencia en las células de unas “cadenas laterales específicas” a las que denominó receptores, con una estructura química y estética singular, que sólo podían combinarse con anticuerpos que poseyeran una composición química y una forma adecuada. Imaginó la existencia de un sistema estereoespecífico entre fármaco y receptor, que gráficamente definió como un sistema “llave-cerradura”. Ehrlich, partiendo de la teoría microbiana y de su idea de “bala mágica”, hecha realidad con el descubrimiento del Salvarsán y Neosalvarsán, abrió un nuevo camino en el desarrollo de la farmacología. A partir de sus trabajos, las acciones de los fármacos pudieron ser consideradas como consecuencia del establecimiento de interacciones físicoquímicas en sitios de acción definidos (Gómez-Lus, 2010).

Patogenia y terapéutica quedaban así indisolublemente unidas en la historia de la medicina.

Así, pues, durante las últimas décadas del siglo XIX y primeros años del siglo XX se demostró la existencia de diversos compuestos antimicrobianos en cultivos bacterianos, algunos de los cuales llegaron a probarse clínicamente, aunque se descartaron a causa de su toxicidad. Era la representación en el laboratorio del fenómeno natural que cada día se escenifica en los suelos, las aguas y otros hábitats naturales. La recta final, hasta la realidad de los antibióticos como terapéutica eficaz de las infecciones bacterianas, no pudo encararse hasta **Alexander Fleming** y el descubrimiento de la penicilina (1929).

5.7. La enfermedad de los gusanos de seda

En el año 1865, y a requerimiento de su maestro Dumas, Pasteur aceptó el encargo de investigar las posibles causas biológicas de una enfermedad que diezmaba los cultivos franceses, se trataba de la llamada pebrina o “enfermedad de los corpúsculos”, por ser su síntoma más evidente la aparición de corpúsculos negros en las distintas fases de la metamorfosis de los gusanos, desde el huevo hasta la mariposa adulta.

Lo hizo tras reconocer a su mentor que en la vida había visto un gusano de seda, lo que fue interpretado por éste, no sin razón, como una importante ventaja: “¡Mejor! Así no llevará usted ideas preconcebidas”. Y su forma de proceder fue ejemplar, no ordenó, como en otras ocasiones, que le trajeran al laboratorio ejemplares contaminados, sino que se trasladó con su

familia, previendo que el trabajo sería largo, al epicentro de la catástrofe, la ciudad de Alais. Se trataba de ver cómo ocurrían las cosas en el ambiente habitual, in situ (Montiel, 2010).

En aquellos días, concretamente en 1868 y con tan sólo 45 años de edad, Pasteur sufrió una hemorragia cerebral que le puso a las puertas de la muerte, dejándole semi-paralítico para el resto de sus días. Leyendo con todo su ardor el libro del doctor Smiles «Auto-ayuda», resolvió continuar con su ilusión por descubrir el agente causante de la enfermedad de los gusanos de seda, controlarla y salvar de la ruina y del hambre a numerosas familias. Una prueba más de la inquebrantable voluntad de Pasteur (Vallery Radot, 1939).

Y vaya si lo consiguió, con la ayuda de Gernez, Pasteur llegó a la conclusión de que eran los animales contaminados los que infectaban los huevos, ya que se trataba de una parasitación, **los globulitos negros estaban vivos, eran parásitos**. Pasteur propuso una solución basada en el sentido común, seleccionar mariposas aún no contaminadas, o adquirir huevos sanos, y crear linajes “limpios” alejados de cualquier eventual contaminación por los antiguos. De esta manera, Pasteur salvó la industria francesa de la seda (Montiel, 2010).

5.8. El cólera de las gallinas o peste aviar

Otro problema existente en la segunda mitad del siglo XIX era la enfermedad que afectaba a las aves, las cuales morían de forma repentina cuando éstas se introducían en el gallinero. La enfermedad ocurría por brotes y sobre todo durante el tiempo frío y húmedo. Pasteur estudió esta enfermedad y tras varios intentos en diferentes tipos de caldos de cultivo, obtuvo el más apropiado, que no fue otro que el obtenido de carne de gallina.

El líquido de cultivo más límpido se enturbiaba en pocas horas y se llenaba de incontables corpúsculos, extremadamente tenues y algo estrangulados en su parte media. Su reducidísimo tamaño se reducía aún más cuando se reproducen a los pocos días, dando numerosos corpúsculos de diámetro difícilmente medible, el líquido de cultivo se tornaba casi transparente y dejaba de ser turbio y lechoso como al principio. El problema no sólo pasaba por su ingestión, que provocaba una muerte muy rápida en los animales, sino por la contaminación proveniente del virus, que quedaba en los excrementos de las gallinas, mortal también para las demás aves del corral.

A su vez al intentar experimentar con otros animales, como son los conejillos de indias, éstos no se infectaban cuando les inoculaba cultivo con este microorganismo, apareciendo apenas un absceso que sí era contaminante, pero sin desarrollaban enfermedad, cosa que no

pasaba con las gallinas. En este momento comprendió que algunos animales podían ser reservorios de determinadas infecciones y otros no (González, 2010).

Pasteur pensó en los trabajos de Jenner y reflexionó posteriormente que el virus se atenúa a medida que envejece. **Comprobó que la virulencia del cultivo podría atenuarse pasando éste por una corriente de oxígeno de aire atmosférico, y además ésta podría ajustarse a voluntad.**

La virulencia atenuada servirá para estimular la resistencia natural frente a la enfermedad y favorecer las defensas ante la infección, sin embargo no provocará la enfermedad. Por tanto, la vacuna contra el cólera de las gallinas podría obtenerse fácilmente (Ramos, 2010).

Prevenir se impone sobre la idea de curar. Los entusiastas de Pasteur hablan de una nueva época. La era de la inmunización.

5.9. El carbunco de las ovejas

A comienzos del año 1877 y a petición del Ministerio de Agricultura, se le requiere a Pasteur para que estudie el carbunco, el mal que estaba dañando seriamente a la ganadería francesa. En el verano de 1878 el mismo Ministerio le pidió que investigara cómo la bacteria carbuncosa infecta a los ganados. La causa de la enfermedad carbuncosa era atribuida, según pensaban los veterinarios de la época, a una intoxicación provocada por algún veneno que se encontraba en el campo y que era transmisible.

Davaine fue el primero en aislar el agente patógeno en los años 1850 cuando estudiaba la sangre de los animales fallecidos por la enfermedad, habiendo observado la presencia de unos bastoncillos que comparó con cuerpos vegetales. Pasteur dió repetida cuenta de sus experimentos y para realizarlos pidió colaboración a Jules Joubert, a fin de solventar el encargo del Ministerio y poder mostrar que el "Bacilo de Davine" es el transmisor de la enfermedad. Para ello deberá investigar la bacteria y su relación con la enfermedad, así como determinar si se ve influenciada por otros factores, bien por la sangre, por el suero o bien por la presencia de otros microbios (Ehrhard, 1959).

En su laboratorio, Pasteur dispuso de diferentes medios en que poder cultivar el microorganismo. En esta ocasión utilizó la orina como medio de cultivo y fue realizando sucesivas siembras para poder obtener sólo el microbio sin ningún resto de la primitiva sangre de donde lo obtuviera. Finalmente, de este último cultivo inoculó una gota a un conejo que

murió rápidamente, con lo cual, consiguió aislar al microorganismo causante de la enfermedad.

El 13 de junio de 1877, en una granja cercana a Chartres, Pasteur seleccionó 3 cadáveres de animales diferentes muertos en distintos tiempos (una oveja muerta hacía 16 horas, un caballo muerto hacía 24 horas y una vaca muerta más de 48 horas, traída de una aldea lejana). El resultado que encontró tras estudiar las muestras sanguíneas de estos animales no era el mismo; en la obtenida de la oveja había numerosos microbios de carbunco, en la del caballo había pocos y no obtuvo ninguno en la sangre procedente de la vaca.

Pasteur sospechó una segunda enfermedad recordando lo que sucedía cuando estudiaba los gusanos de seda. Por ello, inoculó sangre procedente de la vaca en una cobaya, la cual murió en poco tiempo después de hincharse los músculos y el vientre. En su autopsia encontró una secreción en su abdomen de donde tomó muestras, y tras mirar al microscopio encontrará el “vibrión séptico”, deduciendo de este experimento que este aparece cuando el animal lleva un determinado tiempo muerto, es decir, cuando se encuentra en estado de putrefacción.

Continuando con su investigación, Pasteur descubrió la fuente del contagio del carbunco, la cual es transmitida por una bacteria que penetra por vía digestiva al ingerir el animal forraje contaminado. Pasteur averiguó que el vehículo que transmite la espora es la lombriz. Al excavar sus galerías subterráneas, las lombrices hurgan en las proximidades de las fosas donde se encuentran depositados los animales muertos por carbunco, y difunden y transportan las esporas que exhuman a los pastos donde son ingeridas por animales sanos. Para confirmar la hipótesis se estudiaron estas tierras y las lombrices procedentes de las fosas en busca del microbio, encontrando las esporas del mismo junto a bacilos sépticos. Por tanto, Pasteur ya advirtió que siempre que fuera posible, habría que escoger para enterrar a los animales suelos poco aptos para la vida de las lombrices (González, 2010).

Al intentar preparar la vacuna del carbunco, Pasteur encontró dificultades pues el método empleado para el cólera de las gallinas no le sirvió, el bacilo del carbunco es capaz de desarrollar esporas y éstas sobreviven a la oxigenación y conservan su virulencia, con lo cual no pueden ser atenuadas.

Pasteur pensó en las consecuencias de la temperatura y encontró una franja de calor donde podía cultivar el microorganismo y evitar la producción de esporas. **Pasteur consiguió la vacuna cultivando la bacteria durante 8 días a 42-43°C oxigenando los cultivos**, consiguiendo que éstos sean inofensivos para los animales que más fácilmente enferman de carbunco, como

son el conejo, el cobaya y la oveja. Antes de que se extinga su virulencia el microbio del carbunco pasa por diferentes estados de atenuación y, por otra parte, como les sucede también a los microbios del cólera de las gallinas, cada uno de esos estados de virulencia atenuada puede reproducirse en cultivo. Las bacterias de virulencia atenuada constituyen una vacuna contra las de virulencia mayor (Ramos, 2010).

Para preservar animales del ataque mortal del carbunco se inyectaba precisamente el virus de la serie de cultivos sucesivos para provocarles un carbunco benigno. Pasteur obtuvo de esta manera una vacuna inalterable, constituida por esporas, que podía ser trasladada a cualquier lugar para llevar a cabo la vacunación de los animales frente a la temible enfermedad.

Rossignol (veterinario de la época), no confiaba en la eficacia de la vacuna, la primera de la historia con bacterias atenuadas, y desafió a Pasteur a demostrarla en público. La Sociedad de Agricultura local puso a disposición de ambos 60 animales, y

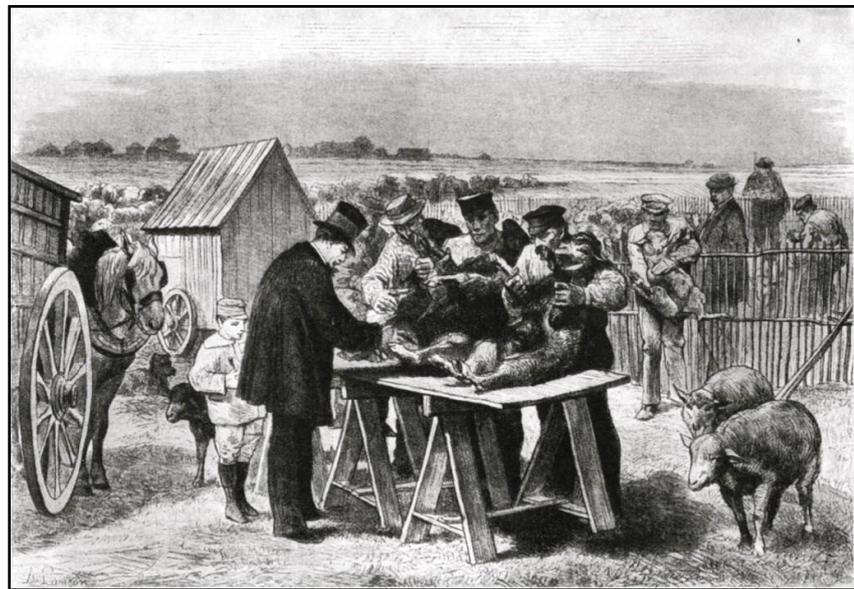


Figura 9. *Pasteur en Pouilly-le-Fort (Lançon, 1881)*

la prueba se hizo en una finca en Pouilly-le-Fort, a poca distancia de París. Pasteur inoculó su vacuna atenuada a 24 carneros, 6 vacas y una cabra (Figura 9). Las piezas de Rossignol eran 21 carneros y una cabra sin vacunar. Durante días pastaron en los llamados “campos malditos”, terrenos preñados de esporas venenosas procedentes de cadáveres de animales enfermos de carbunco. El ganado de Pasteur sobrevivió, y todas las reses de Rossignol murieron, encumbrando públicamente a Pasteur como descubridor de la nueva vacuna.

El programa de vacunación que redactó Pasteur lo llevó a cabo ayudado por los investigadores Chamberland y Roux. El plan consistiría en la inoculación de 3 dosis de vacuna separadas durante un intervalo de tiempo y la comprobación del estado de los animales al cabo de un mes tras la exposición al carbunco. El resultado fue satisfactorio, el éxito seguro. El

Gobierno de la República concedió a Roux, Chamberland y Pasteur el gran cordón de la Legión de Honor en reconocimiento por la importancia del descubrimiento (Vallery Radot, 1939).

5.10. La fiebre puerperal y otras enfermedades

Pasteur dedicó especial interés a una infección que arrasaba los hospitales en aquella época, la fiebre puerperal, que desde 1850 asoló múltiples maternidades en Francia. Se trataba de una infección bastante grave que afecta a todo el organismo humano y que desencadena una respuesta inflamatoria generalizada. Este grave proceso infeccioso septicémico afectaba a las mujeres tras un parto o un aborto, al igual que al recién nacido, debido principalmente a la falta de higiene del personal que asistía a estos partos, así como del material utilizado. No obstante, no fue hasta 1879 cuando la Academia de Medicina puso de manifiesto la gravedad de la epidemia de **la fiebre puerperal**.

Pasteur identificó a *Streptococcus pyogenes* como el causante de la sepsis puerperal. Este microorganismo es uno de los patógenos bacterianos más importantes de los seres humanos. Es la causa bacteriana más frecuente de la faringitis aguda, así como de distintas infecciones cutáneas y sistémicas (Calvo, 2010).

Pasteur, junto con sus colaboradores Roux y Chamberland tomaron muestras de sangre de las mujeres infectadas, realizando los primeros cultivos bacterianos en caldos de gallina, hoy día denominados hemocultivos. La observación de estos cultivos al microscopio permitió un diagnóstico rápido y un pronóstico seguro (Figura 10) (de Kruif, 1986).

En esa época, su ayudante Chamberland se quejaba con regularidad de una serie de furúnculos que le aparecían en la zona del cuello, la nuca y los muslos, siendo diagnosticado de **furunculosis**. Pasteur lo examinó e intuyó que quizá se encontrarán con una nueva fuente de nuevos microorganismos. Pasteur tomó una serie de muestras de pus de los furúnculos de Chamberland y la depositó en dos frascos con caldo para su cultivo, uno de músculos de gallina y el otro de levadura. Al día siguiente ambos frascos estaban repletos de microorganismos, aunque mostraban diferentes aspectos (de Kruif, 1986).

Con este experimento Pasteur consiguió aislar uno de los microorganismos más frecuentes hoy en día, el **estafilococo** (*Staphylococcus*), y comprendió a su vez, que no todos los microorganismos crecen de igual manera en los

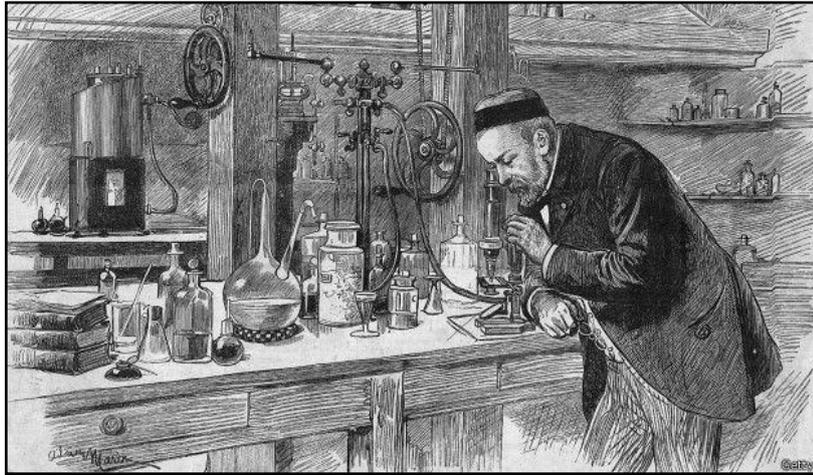


Figura 10. *Louis Pasteur en su laboratorio (Marie, 1885)*

mismos caldos de cultivo, sino que requieren unos nutrientes específicos para su crecimiento.

Otra de las enfermedades que estudió Pasteur fue la **osteomielitis**, cuando fue requerida su presencia en el hospital de Trousseau. El cirujano Marie le pidió ayuda para conseguir identificar el agente causante de un tumor en la rodilla derecha de una niña de doce años. Pasteur consiguió identificar al patógeno, resultando ser exactamente idéntico a los observados en las muestras obtenidas de su ayudante Chamberland. Por consiguiente, llegó a la conclusión de que el estafilococo no sólo producía infecciones cutáneas como la furunculosis, sino que además producía afecciones óseas, por lo que llegó a la conclusión de que la osteomielitis era también una enfermedad estafilocócica.

Así fue como Pasteur, en 1879, prestó su atención sobre la epidemia que se extendía por Rusia, la **peste bubónica**. Esta enfermedad infectocontagiosa afectaba tanto a humanos como animales y se considera una de las zoonosis más agresivas y potencialmente letales de las enfermedades bacterianas (Gomez-Lus, 2004).

Un breve fragmento de las propias palabras de Pasteur son las siguientes: *“Si yo tuviera que estudiar la peste en el lugar en que se está dando, supondría, de entrada, porque al principio de toda investigación hay que partir de una idea preconcebida que nos guíe, que la peste se debe a la presencia, o al desarrollo en el hombre, de un micrófito o de un microzoario. Basándome en esto, me centraría en cultivos de la sangre y de los diferentes humores del cuerpo, sangre y humores tomados del moribundo o del que acaba de fallecer, con el objetivo y la esperanza de aislar y purificar el organismo infeccioso”* (Vallery Radot, 1939).

Estas directrices marcadas por Pasteur a la hora de estudiar esta enfermedad infecciosa sirvieron como base y apoyo a otros científicos en años posteriores, como es el caso de

Alexandre Yersin que, quince años después, llegó a descubrir el bacilo responsable de la peste (*Yersinia pestis*, antes conocido como *Pasteurella pestis*) en Hong Kong, y demostró la relación entre la enfermedad humana y la de la rata (Calvo, 2010).

Pasteur también trabajó con una enfermedad que afectaba a los cerdos, concretamente la **erisipela porcina**. En su estudio recurrió a las técnicas de costumbre, primero a la utilización de un medio de cultivo adecuado, en este caso usó caldo de ternera, y después, tras su incubación, inoculó a otros cerdos y pudo comprobar que estos también morían rápidamente con síntomas de erisipela porcina, con lo que demostró su alta virulencia (Calvo, 2010).

5.11. La vacuna de la rabia

El tratamiento que Pasteur prepararía para la rabia ofrecería la salvación, curación e inmunidad de por vida. A la rabia la llamaban la muerte horrible por su forma de manifestarse: convulsiones, hidrofobia, agresividad y finalmente asfixia. La transmitían animales enfurecidos, “envenenados” por un mal que podía pasar a los seres humanos y causar su muerte, era algo terrible.

Diciembre de 1880 fue el mes elegido por Pasteur para centrarse en el estudio de la rabia. Nunca había conseguido observar al microscopio el agente infeccioso y, por más esmero que pusiese en las tinciones, éste nunca aparecía. Cuando comenzó su trabajo lo primero que requería era un modelo de infección fiable en el laboratorio. Necesitaba una cepa de referencia con la que trabajar, un método de infección reproducible y homogéneo para poder eliminar dos incomodísimas variables, la incógnita en el contagio y los largos y aparentemente azarosos tiempos de incubación. Reproducir la infección en el laboratorio era una tarea difícil. En principio la única vía de contagio de la enfermedad era a través del mordisco de un animal infectado, opción inviable para el laboratorio (Cafini, 2010).

La vía de inoculación fiable que encontró fue el perro. Para reducir la variabilidad de la infección, ésta se realizaba depositando el agente infeccioso directamente en el sistema nervioso central. De esa manera, el patógeno no debía recorrer su progresión natural, sino que podía desencadenar la infección en cuestión de pocos días. Para ello, Pasteur depositó de forma muy cuidadosa muestras de tejido nervioso infectado directamente sobre la duramadre de animales trepanados. Se aseguraba la infección y se conseguían reducir los tiempos de aparición de los síntomas.

Pasteur se mostró reacio a probar este sistema en perros, creía que la trepanación resultaría demasiado severa y que los animales sufrirían en exceso. Tal fue su reticencia que el modelo se probó en el laboratorio en su ausencia, y cuando Pasteur observó el buen estado del animal, tras ser trepanado e inoculado, se convenció de la utilidad del método. Catorce días después el animal desarrolló la enfermedad.

Una vez que consiguió un método seguro para transmitir la enfermedad, le quedaba una cosa pendiente antes de poder comenzar con la vacuna. La mayoría de las veces los efectos de la infección eran diferentes para cada animal testado. Los períodos de incubación, la severidad de los síntomas y otras muchas características parecían seguir una distribución aleatoria y prácticamente única para cada caso. Como consecuencia decidió atender únicamente a la variable “tiempo de incubación”, puesto que lo que buscaba era una cepa de referencia para poder usarla más adelante en la vacuna, necesitaba un microorganismo que fuese bastante virulento, puesto que ya sospechaba que cuanto mayor fuera el “vigor” del microorganismo, mayor sería también la respuesta del sistema inmune (Cafini, 2010).

Pasteur entendió que la cepa que buscaba no la podría encontrar en la naturaleza y se decidió a obtenerla en su propio laboratorio. Para ello utilizó una metodología basada en la adaptación de los microorganismos al medio, realizando pases consecutivos del mismo virus en conejos de laboratorio, inoculaba un conejo y posteriormente, una vez desarrollada la enfermedad, utilizaba su médula para inocular nuevos conejos. Tras varias infecciones el microorganismo había reducido notablemente el tiempo de incubación, lo cual era síntoma de un aumento de la virulencia. Al cabo de 21 pases consecutivos los síntomas aparecían a los ocho días de la exposición al microorganismo. Pasteur ya tenía lo que quería, su modelo de infección de la rabia. Ahora podía comenzar con el verdadero reto, que era curar la enfermedad (Vallery Radot, 1939).

Para preparar su esperada vacuna, y basándose en sus experiencias con el cólera aviar, pudo ver cómo cultivos mantenidos varias semanas no eran capaces de reproducir la enfermedad de igual manera que los cultivos más frescos. De esta manera, Pasteur había comenzado a manipular el estado fisiológico de los microorganismos aprovechando las escasas capacidades virulentas de microbios “envejecidos” (de Kruif, 1986).

El caso de la rabia presentaba la complicación añadida de que el agente causal de la enfermedad no había sido cultivado, no había sido ni siquiera observado al microscopio. No haber podido aislar el microorganismo rábico no sólo era importante por el mero hecho de no conseguir observarlo, sino que, al no poder ser cultivado, Pasteur no podía aplicar con dicho

agente las mismas técnicas de modificación que había usado en el pasado con otros patógenos.

Sin embargo, la hipótesis que mantenía Pasteur era que el crecimiento continuado de un microorganismo en un medio diferente al natural reducía la virulencia, pero ¿cómo modificar el crecimiento de un organismo que no podemos ver? Pasteur comenzó en un principio variando el huésped.

Había visto que las muestras provenientes de un animal a veces resultaban poco infectivas al cambiar de animal. Así pudo observar que el microorganismo obtenido de un perro tras su infección resultaba poco infectivo al aplicar su modelo en un primate.

Por un lado, había conseguido protección frente a la infección utilizando un microorganismo debilitado, tras pases y cambios de huésped, lo cual no era exactamente lo que estaba buscando. Por otro lado, esta vacuna resultaba inútil una vez producida la mordedura, y precisamente lo que buscaba era curar la enfermedad, no solo prevenirla.

En un nuevo alarde de inteligencia, Pasteur ideó otra forma de abordar su reto, algo que no se había pensado nunca antes, **frenar la enfermedad produciendo una respuesta inmune a través de un microorganismo debilitado mientras que el microorganismo (virus) contagiado progresa de manera natural. Su idea era, por tanto, promover una respuesta inmune más fuerte que se produjera en el tiempo existente entre la mordedura y la aparición de la enfermedad** (Cafini, 2010).

Gracias a uno de sus colaboradores, el doctor Roux, descubrió que la forma idónea de debilitar el microorganismo era la desecación de las médulas de animales infectados. Este sistema presentaba además una característica especialmente interesante para Pasteur, la reducción en la virulencia resultaba gradual y proporcional a los días de desecación.

En el mes de marzo de 1885 Pasteur tenía lo que había buscado. Había conseguido una veintena de perros resistentes a la rabia mediante la inoculación subcutánea seriada de médulas secas. Las inyecciones se hacían diariamente, y cada día se inyectaba una médula con un período de desecación menor hasta llegar a las médulas supuestamente más virulentas, aquellas que habían permanecido en el frasco uno o dos días. De esa manera tan innovadora para la época, Pasteur hacía que los animales fueran después resistentes a la infección por el virus de la rabia.

En julio de 1886, el joven Joseph Meister se presentaba frente a Pasteur acompañado de su madre y del dueño del perro, presentando un abultado número de heridas profundas y unas amplias probabilidades de acabar desarrollando la rabia. Al joven Meister se le administró regularmente una inyección subcutánea de una solución de médula desecada (Figura 11), que

era menos atenuada con cada sucesiva inoculación.

Así, el 16 de julio se llegó a la última inoculación. Esta última era una cepa muy virulenta obtenida de médula de perro. 15 días después de las mordeduras de Meister,

Pasteur, extenuado, abandonó París dejando al

joven bajo la tutela del doctor Grancher. Días más tarde, Pasteur le había curado, y también nos había curado a todos nosotros (Vallery Radot, 1939).



Figura 11. Pasteur asiste a la administración de la vacuna de la rabia al joven Joseph Meister (Harper's weekly, 1885)

A Pasteur le daría tiempo a realizar otra prueba de su tratamiento, esta vez sobre un pastor de quince años llamado Jean-Baptiste Jupille. Conocida es también la historia de un grupo de campesinos rusos, infectados de rabia por los lobos, los cuales llegaron a París en busca del ansiado tratamiento. Pasteur salvó la vida de la mayoría y Alejandro III, zar de Rusia, lo recompensó con 50.000 rubios de oro. (Vallery Radot, 1939).

Según las palabras del propio Pasteur, de 1235 personas vacunadas en agosto de 1886 (Figura 12), únicamente hubo fracaso en tres ocasiones. La estadística le daba la razón.

El tratamiento post-exposición aplicado sigue las bases establecidas por Pasteur, por un lado, se genera inmunidad mediante la vacuna, y por otro, se evita la aparición de los síntomas con la acción del suero antirrábico (Cafini, 2010).

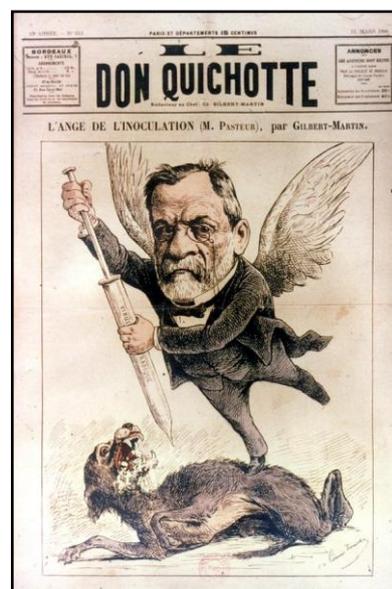


Figura 12. Publicación de la época remarcando el triunfo de Pasteur sobre la rabia (Le Don Quichotte, 1886)

5.12. El Instituto Pasteur y su últimos años

El 12 de enero de 1886, Pasteur escribió una carta dirigida al conde de Laubespi diciendo: *“Tengo intención de fundar en París un centro modelo sin recurrir al Estado, mediante ayudas y suscripciones internacionales. Confío en que un único centro en París podrá bastar no sólo para toda Francia, sino también para Europa, Rusia, e incluso América del Norte”* (Vallery Radot, 1939). En marzo de 1887, por 430.000 francos, se compraron los terrenos en la calle Dutot, en la llanura de Grenelle. Pasteur mismo iba a visitar a quienes creía que le podían ayudar. Una tarde se presentó en casa de la viuda Boucicaut, propietaria de los grandes almacenes Bon Marché. La criada que le abrió la puerta le comunicó que la señora no recibía a nadie. Pasteur insistió tanto, que la criada fue a avisar a la señora y Pasteur le explicó con entusiasmo su proyecto, un instituto en el que sabios de diversos países investigarían los secretos de la vida y la manera de combatir las enfermedades. *“Ya sé que parece una utopía, pero es necesario para la humanidad y eso, señora, requiere dinero. Cualquier suma con la que usted pueda contribuir será bien recibida por pequeña que sea”*.

La señora Boucicaut sonrió, se dirigió a una cómoda y de uno de sus cajones extrajo un libro de cheques. Firmó uno y lo entregó a Pasteur. Éste lo miró, se echó a llorar y abrazó a la señora Boucicaut, que también lloró emocionada. El cheque, de un millón de francos, fue el inicio del Instituto Pasteur, que se inauguró en 1888 (Renard, 2008).

Se había creado una fundación sin precedentes en esa época, un centro científico autónomo, con personal civil, y con una triple misión, es un dispensario para tratar la rabia, un centro de investigación de enfermedades infecciosas y un centro docente superior (Figura 13).



Figura 13. *Instituto Pasteur (Le Musée De L'institut Pasteur, 2012)*

En el discurso de inauguración, Pasteur, demasiado emocionado para poder leer el mismo, encomendó a su hijo esta misión. En él decía su dolor de entrar en el Instituto *"vencido por el tiempo"* y la pena de no ver a su lado a sus maestros ni a sus compañeros de lucha que tan valioso apoyo fueron para él contra la ignorancia, la envidia y la mala fe, y como si dictara su testamento decía a sus colaboradores y discípulos: *"Conservad siempre ese entusiasmo que habéis tenido desde la primera hora, pero dadle siempre por compañera inseparable la crítica más severa. Nunca afirméis nada que no pueda ser demostrado de manera sencilla y decisiva. Tened el culto del espíritu crítico, que reducido a sí mismo ni despierta ideas ni estimula grandes cosas, pero sin el cual todo es caduco. Él siempre tiene la última palabra"*. Más adelante volvía a decir lo que muchas veces antes había repetido: *"Si la ciencia no tiene patria, el hombre de ciencia si tiene la suya y ella ha de referir la influencia que sus trabajos puedan tener para la humanidad"* (Vallery Radot, 1939).

Una vez creado, Pasteur acudía al Instituto y le agradaba estar al corriente de las diferentes investigaciones y pasear por los diversos laboratorios. En una de estas ocasiones, bajaba lentamente por la escalera y se cruzó con un joven investigador que subía precipitadamente, y al verle paró repentinamente y le dejó pasar, mirándole Pasteur fijamente, le preguntó: *"¿Estudia usted mucho?"* y se iría comentando en voz baja *"hay que estudiar mucho"*, ese joven investigador (Charles Nicolle) conseguiría el Premio Nobel en 1928 (Vallery Radot, 1939).

En estos últimos años fueron numerosísimos los reconocimientos que recibió Pasteur, por parte de diferentes naciones, instituciones y colegas de profesión (Figura 14).

Sin embargo, su salud empezaba a flaquear. El 1 de noviembre de 1894, cuando se disponía a salir de su departamento para ir, como todos los días, a ver a sus nietos, Pasteur tuvo una violenta crisis de uremia. Poco a poco Pasteur iba estando más débil, pero nunca se quejaba y ni siquiera hablaba de sí mismo. Debajo de unos castaños, a la entrada del Instituto Pasteur, habían instalado un toldo a cuya sombra pasaba unas horas por las tardes, a veces conversaba con viejos amigos y siempre daba una palabra de aliento a quienes trabajaban en el Instituto.

El 13 de julio de 1895 salió por última vez del Instituto y subió en un coche que lo llevó a Villeneuve-l'Étang, para veranear allí y mejorar su salud. Desde su habitación, o a veces frente a los prados, a la sombra de un grupo de hayas bronceadas, escuchaba la lectura que le hacían su esposa o su hija. A cada día que pasaba disminuían sus fuerzas.

La vista de sus nietecillos lograba todavía iluminar su rostro con una sonrisa. En la última semana de septiembre ya no tuvo

fuerzas para levantarse del lecho. El día 27 de ese mes, cuando le ofrecían una taza de té, dijo: "No puedo más". Se quedó como dormido, pero pronto su respiración no fue ya la de quien duerme sino la del que agoniza. Durante 24 horas permaneció inmóvil e inconsciente. A las 16:40 del día 28 de septiembre de 1895, tranquilamente expiró a los 72 años de edad (Valle, 2010).

Fue enterrado en la catedral de Notre-Dame como un héroe nacional, trasladando sus restos al año siguiente a una cripta construida en el Instituto Pasteur donde es posible a día de hoy leer en la lápida el siguiente mensaje: **"Feliz aquel que lleva consigo un ideal, un Dios interno, sea el ideal de la patria, el ideal de la ciencia o simplemente las virtudes del Evangelio"** (Figura 15) (Valle, 2010).



Figura 14. Louis Pasteur rodeado de sus más cercanos colaboradores: Émile Duclaux, Émile Roux o Charles Chamberland (ABC - Blanco y negro, 1896)

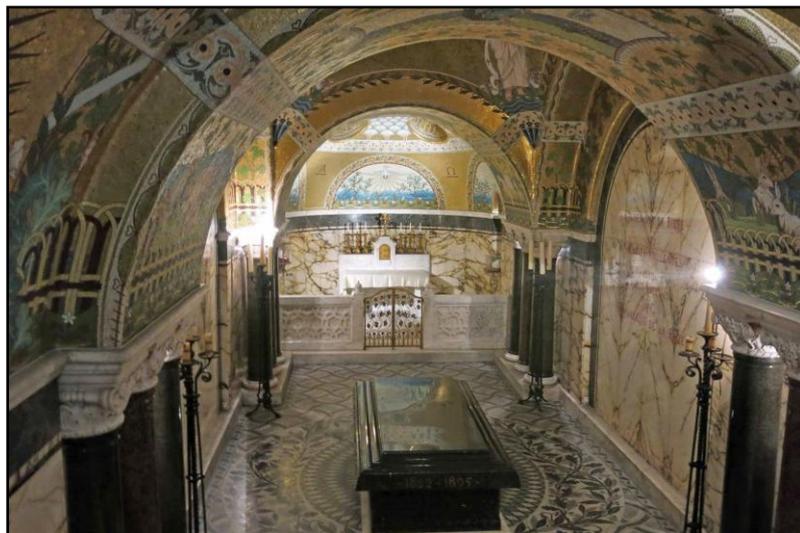


Figura 15. Cripta del Instituto que acoge la tumba de Louis Pasteur (Blog charhadas, 2014)

En la actualidad, y cada nuevo año, en el Instituto Pasteur de París, se reciben solicitudes de todo el mundo para poder participar durante periodos de tiempo, más o menos largos en los proyectos de investigación o los programas de formación impartidos en dicho Instituto. De aquí irán surgiendo, tras un periodo determinado, investigadores de los diferentes campos de las ciencias, con un elevado nivel científico, que terminarán dispersándose por distintos centros del mundo, llevando con su formación científica, el espíritu del maestro, que es como llevar impregnado de por vida, en su actitud de trabajo y de estudio, el recuerdo de Pasteur, convirtiéndole en un ser inmortal.

6. CONCLUSIONES

Tras haber trabajado intensamente y conocido la vida de Pasteur y su aplicación del método científico, extraemos conclusiones que son muy válidas para la vida, tanto a nivel personal como a nivel laboral.

En todos los textos estudiados se hace notar que para Louis Pasteur la perseverancia y la fe ciega en la consecución de los objetivos, dependen de la voluntad, el trabajo y un espíritu inquebrantable. Esta es una de las conclusiones extraídas de este trabajo.

Todos los avances científicos y todas las cosas que hoy vemos habituales y completamente integradas en nuestra vida cotidiana han tenido un principio incierto, innumerables debates y muchas vidas llenas de trabajo y dedicación encaminadas a resolverlas y aplicarlas en pro de una vida más cómoda y satisfactoria para la humanidad. La elaboración de este trabajo nos demuestra la cantidad de científicos que han trabajado para conseguirlas, utilizando los métodos más rudimentarios y superando las dificultades de la época, siendo en la mayoría de las ocasiones, realizado de una manera altruista y desinteresada.

Louis Pasteur se muestra como el estandarte de estos valores, y como la inteligencia y la brillantez de un genio se pone a disposición de la ciencia y de las incertidumbres que ella plantea. Cada avance y cada paso que nos lleva al conocimiento actual, así como todo el camino que nos queda por recorrer, aunque en diferentes épocas y contextos, deben ser recorridos con la misma entereza y actitud que Pasteur nos enseñó; esta es otra de las conclusiones que se extraen del estudio de su vida.

No obstante, esa capacidad para enfocar los problemas desde otra perspectiva y no dar nada por supuesto, en contra de los pensamientos y creencias preestablecidas, es también una de las enseñanzas de Pasteur. Tener un espíritu crítico e inconformista, acompañado de un

estudio y análisis de los pequeños detalles conducirá al éxito, y sobre todo, a la realización personal y a la valoración de uno mismo.

Así, a sus 25 años, Louis Pasteur realizó la primera de sus grandes aportaciones a la ciencia, el descubrimiento de la isomería óptica, mediante la cristalización del ácido paratartárico (ácido racémico), del cual obtuvo cristales de dos formas diferentes, orientados de forma especular; por tanto, se considera a Pasteur el iniciador de los trabajos que dieron origen a la estereoquímica. A partir de aquí, aumentó su interés por los microorganismos, y empezó a estudiar las fermentaciones alcohólica y butírica, definiendo el concepto de fermentación como "la vie sans l'air" (la vida sin aire), un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, cuyo producto final es un compuesto orgánico, y realizado por microorganismos, demostrando que la eliminación de estos a partir de calor anula el proceso, sin modificar las características organolépticas del producto. Había inventado la pasteurización, que tantos beneficios ha aportado a la industria de la alimentación y la salud.

Todos estos estudios prosiguieron con el estudio sobre la producción del vinagre, y llevaron a Pasteur a dedicarse a la solución de los problemas de las alteraciones del vino y la cerveza, considerándose a Pasteur, el padre de la Enología.

Las investigaciones sobre la fermentación condujeron a Pasteur a preguntarse si aquellos microorganismos que intervenían en la misma se formaban de manera espontánea o procedían del entorno. Para resolver la cuestión, ideó un experimento consistente en introducir material nutritivo esterilizado mediante calor en diversos recipientes, todos ellos sellados para impedir la contaminación por el aire local. Sus famosos experimentos con los matraces con cuello en forma de cisne convencieron de manera definitiva a la comunidad científica.

La publicación de las conclusiones supuso la definitiva erradicación de la teoría de la generación espontánea. La refutación de esta teoría le llevó a plantear la teoría microbiana de la infección, y a partir de aquí, Pasteur se dedicó a estudiar el origen y la curación de diferentes enfermedades.

Pasteur descubrió los mecanismos de transmisión de la pebrina, una enfermedad que afecta a los gusanos de seda y amenazaba con hundir la industria francesa. Estudió en profundidad el problema y logró determinar que la afección estaba directamente relacionada con la presencia de unos corpúsculos que aparecían en la puesta efectuada por las hembras contaminadas, ya que se trataba de un parasitismo.

Trabajó en la enfermedad del cólera de las gallinas. Pasteur advirtió que unos animales infectados con un cultivo conservado en malas condiciones, y por tanto deteriorado, quedaban protegidos frente a la enfermedad. Descubrió, por tanto, que en determinadas condiciones, los gérmenes resultaban menos patógenos, pero que al inocularlos en un individuo sano daban igualmente lugar a una respuesta defensiva que protegía contra los gérmenes virulentos. Por tanto, preparó una vacuna eficaz solucionando la enfermedad.

Posteriormente, inició sus estudios acerca del carbunco, una enfermedad que causaba muchísimas muertes en el ganado. Pasteur descubrió el bacilo responsable de la enfermedad y llevó a la práctica la idea de inducir una forma leve de la misma en los animales, inoculándoles bacilos debilitados para inmunizarlos contra ataques más agresivos. Preparó la vacuna y resultó un éxito, todo el ganado en el que inoculó bacilos débiles resistieron el contagio de los bacilos letales, y todo el no vacunado murió.

La continuación de sus investigaciones le permitió desarrollar la vacuna para prevenir la rabia, una enfermedad contagiosa también llamada hidrofobia en humanos y contra la que no existía paliativo alguno, resultando casi siempre mortal. Después de largos estudios y experimentos encontró un método seguro para atenuar el virus, inoculó la enfermedad en conejos y, tras su muerte, sometió a desecación las médulas de los mismos, de las que podían obtenerse extractos cada vez menos virulentos a medida que avanzaba el tiempo de desecación. La efectividad de esta vacuna, su última gran aportación en el campo de la ciencia, se probó con éxito en 1885 en un niño de nueve años, Joseph Meister, que había recibido la mordedura de un perro rabioso y que, gracias a un tratamiento de diez días, no llegó a desarrollar la enfermedad.

El apoyo popular hizo posible la construcción del Instituto Pasteur, fundado en 1888, que gozaría a partir de entonces de un justificado prestigio internacional. Con la salud muy debilitada (venía padeciendo una hemiplejía desde 1868), en 1892 recibió en la Sorbona un solemne homenaje con motivo de su septuagésimo aniversario, y tres años después, en 1895, el insigne científico falleció.

Esta filosofía de vida y trabajo, junto a los ya descritos e innumerables descubrimientos que Pasteur nos legó, son las conclusiones más importantes de esta revisión y de la que queremos hacer partícipe al lector.

7. ANEXOS

7.1. Frases celebres

Louis Pasteur nos dejó algunas frases para el recuerdo, que pensamos son merecedoras de compartir:

- “Quiero compartir con ustedes el secreto que me ha llevado a alcanzar todas mis metas: mi fuerza reside únicamente en mi tenacidad”.
- “Los verdaderos amigos se tienen que enfadar de vez en cuando”.
- "Serán los microbios los que digan la última palabra".
- “Desgraciados los hombres que tienen todas las ideas claras”.
- “Las ciencias aplicadas no existen; sólo las aplicaciones de la ciencia”.
- “No evitéis las dificultades a vuestros hijos, más bien enseñadles a superarlas”.
- “Los veterinarios lo tienen más fácil. Por lo menos, no son desorientados por las opiniones de sus pacientes”.
- “La fortuna juega a favor de una mente preparada”.
- “Un poco de ciencia aleja de Dios, pero mucha ciencia devuelve a Él”.
- “No os dejéis corromper por un escepticismo estéril y deprimente; no os desalentéis ante la tristeza de ciertas horas que pasan sobre las naciones. Vivid en la serena paz de los laboratorios y las bibliotecas. Preguntaos primero: ¿Qué he hecho por instruirme? y, después, al ir progresando. ¿Qué he hecho por mi patria? Hasta que llegue el día en que podáis sentir la íntima satisfacción de pensar en que de alguna manera habéis contribuido al progreso y bienestar de la humanidad”.

(Revista Muy Interesante, 2014)

7.1. Hechos destacados en la vida de Louis Pasteur

En la siguiente tabla se detallan los nombramientos y honores recibidos más destacados en la trayectoria de Louis Pasteur.

Tabla 1. *Nombramientos y honores en la trayectoria de Louis Pasteur (Ramos y Cafini, 2010)*

Año	Hecho destacado
1840	Bachiller en letras.
1841	Profesor Auxiliar en el Colegio de Besançon donde estudia matemáticas especiales.
1842	Bachiller en Ciencias. Admitido en la Escuela Normal. Asiste a las clases de J. B. Dumas en la Sorbona.
1843	Recibe el primer premio de Física del Liceo Saint Louis.
1844	Ingresa en la Escuela Normal Superior.

1847	Doctorado en Física y Química.
1848	Profesor de Física y Química en el Liceo de Dijon.
1852	Catedrático de Química en Estrasburgo.
1854	Profesor de Química y Decano de la Facultad de Ciencias de Lille.
1857	Director del Departamento de Ciencias de la Escuela Normal de París.
1859	Recibe el Premio de Fisiología Experimental de la Academia de Ciencias.
1863	Recibe el encargo de Napoleón III de estudiar la enfermedad de la vid y es nombrado profesor de la Escuela de Bellas Artes.
1864	Es nombrado miembro de la Academia de Ciencias de Francia.
1867	Recibe el Gran Premio de la Exposición de París por su trabajo sobre el vino.
1868	Diploma de Doctor en Medicina de la Universidad de Bonn que devolvería 3 años más tarde en protesta por la guerra franco-alemana.
1873	Elegido miembro de la Academia de Medicina de París.
1874	Obtiene una Pensión Vitalicia por su enfermedad y meritos (deja la docencia pero sigue trabajando).
1880	Miembro de la Sociedad Francesa de Medicina Veterinaria.
1881	Caballero de la Legión de Honor. Ingresas en la Academia Francesa.
1887	Secretario Perpetuo de la Academia Francesa de Ciencias.
1892	Celebración solemne de su cumpleaños en el anfiteatro de la Sorbona.
1895	Fallecimiento de Louis Pasteur.

8. BIBLIOGRAFÍA

- De Kruif P., Cazadores de microbios. Barcelona: Salvat Ediciones, 1986.
- Ehrhard F., Luis Pasteur, el hombre y su obra, 1959.
- Espasa-Calpe, Enciclopedia Universal Ilustrada Europeo-Americana, S.A. Madrid, 1966. Tomo XLII.
- Gómez-Lus R., De los cazadores de microbios a los descubridores de antibióticos. Zaragoza: Ed. Fernando el Católico, 2004.
- González J. y Calvo A., El despertar de la era antibiótica, Prous Science S.A., 2005.
- Nueva Enciclopedia Sopena, Editorial Ramón Sopena, S.A. Barcelona, 1953. Tomo IV.
- Parker S., Louis Pasteur y los gérmenes. Madrid: Celeste Ediciones, 1993.
- Pasteur L., Investigaciones sobre la putrefacción, 1863.
- Pasteur L., Mémoire sur la fermentation alcoolique, 1860 .

- Pearson R.B., El Sueño y la Mentira de Pasteur, 1942.
- Renard, Diario 1887-1910, Ed. Debolsillo, Barcelona, 2008.
- Salvat Editores, Universitas, Enciclopedia de Iniciación Cultural, S.A. Barcelona, 1950. Tomo XIX.
- Thom R.A., Great Moments in Medicine, Parke Davis & Company, 1966.
- Universidad Complutense de Madrid (Montiel L., Maestre J.R., Maestre C., Gómez-Lus M.L., González J., Sevillano D., Alou L., González N., Ramos C., Calvo A., Valle J.L., Cafini F.), Louis Pasteur - Una vida singular, una obra excepcional, una biografía apasionante, Ed. Kos, Comunicación Científica y Sociedad, S.L., 2010.
- Vallery Radot R., La vida de Pasteur - La sublime obsesión de genio, Ed. Juventud Argentina, Buenos Aires, 1939.
- <http://barricayvino.blogspot.com.es/2007/11/pasteur-y-el-vino.html>
- [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Louis_Pasteur_in_Pouilly-le-Fort_\(Illustration_-_1881\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Louis_Pasteur_in_Pouilly-le-Fort_(Illustration_-_1881).jpg)
- <http://lshistoriasdedramami.blogs.charhadas.com/2014/01/20/recordando-a-pasteur/>
- <http://louispasteurhistoricalprojectjt.weebly.com/political-cartoon.html/>
- <http://medhum.med.nyu.edu/blog/?p=195>
- <https://storify.com/microBIOblog/louis-pasteur-1822-1895>
- <http://urbinavinos.blogspot.com.es/2010/09/bacterias-en-el-vino.html>
- https://twitter.com/microBIOblog?ref_src=twsrc%5Etfw
- <http://www.abc.es/abcfoto/anverso-reverso/20150928/abci-louis-pasteur-muerte-110-rabia-pasteurizacion-201407041755.html>
- <http://www.delcampe.net/>
- <https://www.emaze.com/@AFFZCWFC/Generaci%C3%B3n-espont%C3%A1nea>
- <https://www.geni.com/people/Louis-Pasteur/>
- <http://www.muyinteresante.es/cultura/arte-cultura/articulo/10-frases-celebres-de-louis-pasteur-441411736387>
- http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/themes/medicine/jacob/
- <http://www.pasteur.fr/en/institut-pasteur/pasteur-museum>