

Příběh jedné plísně – „*Penicillium notatum*“ a objev penicilinu

Vladimír Ostrý, Veronika Kýrová

Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně

Skotský lékař bakteriolog Alexander Fleming prováděl na Lékařské škole při nemocnici Panny Marie v Londýně experimentální pokusy se stafylokoky.

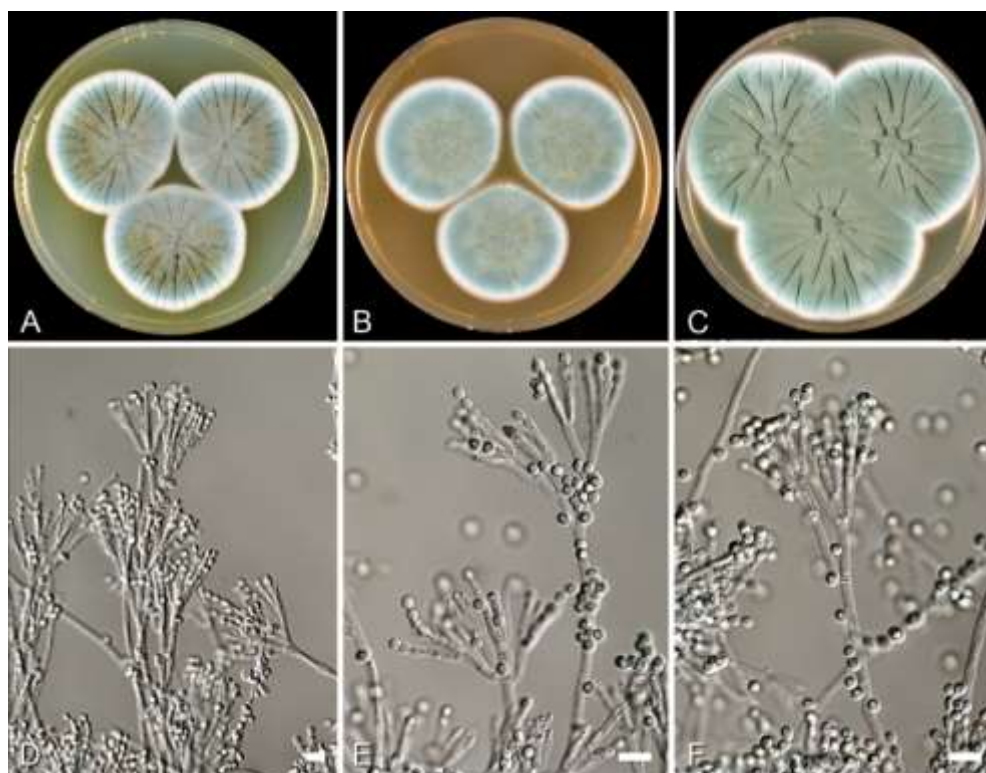


Dr. Alexandr Fleming

(*1881 - +1955)

V roce 1928 došlo k následující události. Flemingův asistent ponechal otevřené okno v laboratoři, kde byly uloženy Petriho misky s narostlými kulturami stafylokoků. Otevřeným oknem se do laboratoře dostaly spóry plísně, které následně kontaminovaly tyto Petriho misky. Spóry plísně údajně pocházely z laboratoře Flemingova kolegy z lékařské školy dr. Charlese J. La Touche, který sídlil v laboratoři o poschodí níže ve stejné budově a plísněmi se v té době výzkumně zabýval (Diggins 1999; Ligon 2004).

Izolovaná plíseň byla identifikována již zmíněným mykologem dr. Charlesem J. La Touchem jako *Penicillium rubrum*. Později významný americký mykolog dr. Charles Thom izolovanou plíseň přeurčil na *Penicillium notatum* Westling. Ještě později byla plíseň přeurčena na *P. chrysogenum* Thom (Samson a kol. 1977; Houbraken a kol. 2011). Nejnovější výzkumy na základě výsledků sekvenace DNK a dalších molekulárně biologických metod určily, že se jedná o *Penicillium rubens* Biourge (CBS 205.57 = NRRL 824) (viz obr. 1) (Houbraken a kol. 2011).



Obr. 1 *Penicillium rubens* CBS 205.57. Kolonie po 7 dnech růstu při 25 °C na živných půdách: CYA (A), MEA (B), YES (C), Konidiofory (D–F) (Houbraken a kol. 2011).

Fleming si všiml, že kolem kolonie plísně se vytvořila zóna, kde došlo k inhibici růstu stafylokoků (viz obr. 2)



Obr. 2 Flemingovo pozorování

Fleming se údajně pousmál a řekl "*that's funny*". Byl pátek ráno dne **28. září 1928** (Haven 1994; Brown 2004). Fleming usoudil, že plíseň „*Penicillium notatum*“ produkuje látku s

baktericidním účinkem. Dalšími pokusy, pak Fleming zjistil, že účinná látka v extraktu z plísně nezabíjí jen stafylokoky, ale i jiné bakterie a má nízkou toxicitu (Fleming 1929; McFarlane 1984).

Účinnou látku pojmenoval penicilinem, který se později stal prvním významným antibiotikem.

Izolace „čistého“ penicilinu z extraktu plísně „*Penicillium notatum*“ se však Flemingovi nepodařila. Neuspěli ani bakteriologové Harold Raistrick a Percival Walter Clutterbuck, kteří měli i značné znalosti z chemie (Anonymous 1999).

Izolace penicilinu se podařila až v roce 1940. Velkou zásluhu na tom měli vědci z Oxfordské univerzity patolog a farmakolog Howard Walter Florey, biochemik Ernst Boris Chain a především jejich mladší spolupracovník biochemik Norman Heatley (Anonymous 1999).



Howard Walter Florey
(*1898–⁺1968)



Ernst Boris Chain
(*1906–⁺1979)



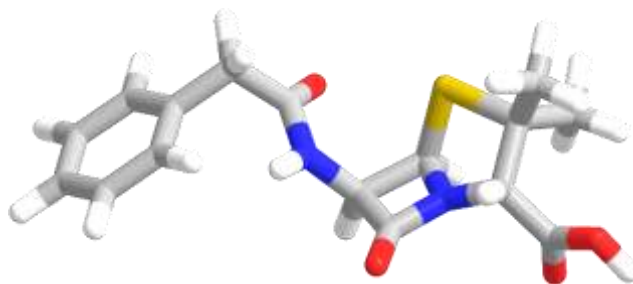
Norman Heatley
(*1911–⁺2004)

Právě Heatley udělal zřejmě na izolaci penicilinu nejvíc práce. Kmen „*Penicillium notatum*“ izolovaný Flemingem však měl nízkou produkci penicilinu a nebyl k průmyslové výrobě penicilinu právě nejvhodnější. Nastala zásadní otázka, kdo bude penicilin vyrábět? Britská vláda si v průběhu 2. světové války nemohla dovolit sponzorovat výrobu penicilinu a soukromé farmaceutické firmy odmítaly výrobu penicilinu kvůli malým výnosům.

K průmyslové produkci penicilinu došlo až počátkem 40. let v USA. Heatley a Florey odcestovali v roce 1941 do USA s cílem vyrobit asi jeden kilogram čistého penicilinu. Výzkum jim byl umožněn a především Heatley se zapojil do práce výzkumného centra Ministerstva zemědělství USA (**Northern Regional Laboratory**) v Peorii ve státě Illinois. Začal pracovat v týmu dr. Andrew J. Moyera specialisty na výživu plísní a produkci plísňových metabolitů. Pracovnímu týmu se podařilo z **plesnivého melounu cantaloupe**

izolovat kmen *Penicillium chrysogenum* Thom (= *Penicillium rubens* Biourge /CBS 307.48.57 = NRRL 1951/) s vysokou produkcí penicilinu. Bylo také upraveno složení živného média k produkci penicilinu o „corn steep liquor“, vedlejší produkt extrakce kukuřičného škrobu a místo glukózy byla použita laktóza. To vedlo ve svém důsledku k 10x zvýšení produkce penicilinu (USDA 2018). Díky uvedenému výzkumu v USA se tak mohl na podzim 1943 "superlék" penicilin začít průmyslově vyrábět a rok nato už léčil zraněné vojáky i civilisty (Anonymous 1999).

Chemickou strukturu penicilinu poprvé identifikoval Edward Abraham v roce 1942. Dorothy Crowfoot Hodgkin konfirmovala chemickou strukturu penicilinu v roce 1945 pomocí rentgenové krystalografie (obr. 3) (Jones a Jones 2014).



Obr. 3 Penicilin - 3D model

Když se za objev penicilinu v roce 1945 udělovala Nobelova cena za fyziologii a medicínu, jejími laureáty se stali Fleming, Florey a Chain. Heatley se laureátem nestal.

Přesto byl Heatley za své zásluhy v roce 1990 oceněn, když obdržel čestnou vědeckou hodnost doktora lékařských věd (*doctor honoris causa*) na univerzitě v Oxfordu jako první nelékař v její 800 leté historii. Sir Henry Harris, prof. medicíny v Oxfordu v roce 1998 prohlásil: "*Without Fleming, no Chain or Florey; without Florey, no Heatley; without Heatley, no penicillin!*" (Sidebottom 2004).

A úplně na závěr. V českých zemích byl penicilin (pod označením BF Mykoin 510) poprvé připraven v roce 1944 v chemicko-farmaceutické továrně Benjamin Fragner v Dolních Měcholupech (dnes Zentiva) (Havlík 2002).

Poděkování

Podpořeno MZ ČR – RVO („Státní zdravotní ústav – SZÚ, IČ 75010330)

Literatura

Anonymous "The discovery and development of penicillin 1928-1945" commemorative booklet produced by the National Historic Chemical Landmarks program of the American Chemical Society, 1999, 11 p.

BROWN, K. *Penicillin Man: Alexander Fleming and the Antibiotic Revolution*. 2004, 320 pp. Sutton Publishing. ISBN 0-7509-3152-3.

DIGGINS, F. "The true history of the discovery of penicillin, with refutation of the misinformation in the literature". *Br J Biomed Sci*. 1999, 56 (2): 83–93.

FLEMING, A. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. (Reprinted from the *British Journal of Experimental Pathology* 10:226-236, 1929). *Clin Infect Dis*. 1980, 2 (1): 129–39.

HAVEN, K.F. *Marvels of Science: 50 Fascinating 5-Minute Reads*. Littleton, CO: Libraries Unlimited. 1994, p. 182. ISBN 1-56308-159-8.

HAVLÍK, J. Vývoj penicilinových antibiotik. *Klin. Mikrob. Inf. Lék*. 2002, 1, 7–10.

HOUBRAKEN, J., FRISVAD, J.C., SAMSON, R.A. Fleming's penicillin producing strain is not *Penicillium chrysogenum* but *P. rubens*. *IMA Fungus*. 2011, 2 (1), 87–95.

JONES, D.S., JONES, J.H. Sir Edward Penley Abraham CBE. 10 June 1913 – 9 May 1999. *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society*. 2014, 60: 5–22.

LIGON, B. Penicillin: its discovery and early development. *Semin Pediatr Infect Dis*. 2004, 15 (1): 52–7. doi:10.1053/j.spid.2004.02.001.

McFARLANE, G. *Alexander Fleming. The Man and the Myth*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1984

SAMSON, R.A., HADLOK, R., STOLK, A.C. A taxonomic study of the *Penicillium chrysogenum* series. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1977, 43 (2), 169–175.

SIDEBOTTOM, E. Without Heatley, no penicillin. *Oxford Today: The University Magazine*. 2004, 16 (3).

USDA. The Rescue Of Penicillin - Agriculture's great gift to modern medicine. Last Modified: 2/14/2018 <http://www.ars.usda.gov/is/timeline/penicillin.htm>

Kontaktní adresa

Doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc., Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin, Oddělení hodnocení zdravotních rizik a aplikované výživy, NRC pro mikroskopické houby a jejich toxiny v potravinových řetězcích, Palackého 3a, Brno, 612 42, e-mail: ostry@chpr.szu.cz