Louis Pasteur: In memoriam

ANGELA RESTREPO

Se hace un recuento de los experimentos que le permitieron a Pasteur concluir que no existe la generación espontánea; se enfatizan algunas de las cualidades de este investigador como la originalidad, la independencia de criterio, la perseverancia, la dedicación, la amplitud de horizontes y el interés en servir a los demás; Pasteur contribuyó al avance del método científico aplicándolo rigurosamente y puede ser considerado como el fundador de la microbiología.

PALABRAS CLAVE
LOUIS PASTEUR
HISTORIA DE LA MEDICINA
MÉTODO CIENTÍFICO

INTRODUCCIÓN

omaría muchas horas narrar la vida de Louis Pasteur, tan rica en descubrimientos, realizaciones y, sobre todo, en enseñanzas. En gracia a la brevedad, se analizará aquí sólo uno de sus trabajos, el referente a las llamadas generaciones espontáneas. La trascendencia que tuvo el debate sobre este tema, el hecho de que fuera el crisol en el cual se refinara la ciencia microbiológica y se afianzara el método científico, justifican su selección como tópico conmemorativo del centésimo aniversario de la muerte del sabio francés.

En Pasteur, el científico, se conjugaron singulares cualidades, tales como la originalidad que le permitía pensar en forma diferente, el poder de observación. gracias al cual percibía los detalles que a otros escapaban, y la independencia de criterio que le daba valor para defender aquéllo que sabía era correcto. Pero, además, era perseverante y podía trabajar por largo tiempo en un tema sin desánimo. Mostraba gran dedicación a su labor pero, sobre todo, se comprometía con las gentes como lo demuestra el que siempre buscara aplicar su conocimiento en beneficio de otros. Tal vez los hallazgos del sabio francés, por extraordinarios que fuesen, no hubieran tenido tan honda repercusión de no haber sido porque todos fueron emprendidos con un objetivo primordial, el de servir a los demás.

Debe destacarse aquí la amplitud de horizontes del sabio, pues con sus trabajos incursionó en muchas disciplinas, desde la cristalografía hasta la in-

DOCTORA ANGELA RESTREPO MORENO, Directora, Laboratorio de Micología, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB), Medellín, Colombia.

Publicado con autorización del Doctor Germán Campuzano, Editor de Anales de la Academia de Medicina de Medellín

munología, a cuyo progreso contribuyó grandemente. En todas estas disciplinas, plasmó el método científico como hoy se lo acepta y en el cual se parte de la observación, se sigue con la hipótesis, se pasa a la experimentación y al análisis para terminar con las conclusiones y la divulgación de los resultados. Pero Pasteur tuvo, además, una intuición privilegiada que le permitía abrir brecha cada vez que emprendía un nuevo experimento.

Pasteur fue, sin lugar a dudas, el fundador de la microbiología pues, a pesar de haber tenido predecesores, como siempre sucede en la historia, sus logros, energía, combatividad y en fin, su genio, le permitieron sembrar en los campos de la biología y la medicina el germen de lo que los políticos llamarían *revolución permanente*. En efecto, Pasteur fue un revolucionario, puesto que sus hallazgos en el campo de la biología, contradijeron los conocimientos y las creencias arraigados de la época. Tales hallazgos fueron aceptados por unos pocos, rechazados por la mayoría y combatidos por muchos ya que la VIDA estaba implicada en cada uno de sus conceptos.

EL ORIGEN DE LAS FERMENTACIONES

Los estudios de Pasteur sobre la generación espontánea tuvieron una antesala, a saber, sus experiencias en el campo de las fermentaciones. Entre 1835 y 1850, estudiosos de la época, de la talla de Gay-Lussac, Berzelius, Whöler, Liebig y otros afirmaban que la fermentación era producida por la desintegración de la materia orgánica (teoría físicoquímica). En 1839 Liebig afirmaba que "...la levadura de cerveza y, en general, todas las sustancias animales y vegetales que entran en putrefacción, transmiten a otras sustancias el estado de descomposición en que ellas se encuentran..". Aquéllos que se atrevían a pensar distinto, y que era pocos, razonaban que la fermentación y la putrefacción no tenían tal origen sino que eran el resultado de la actividad de un cuerpo organizado, de una célula viva. Entre los disidentes de la época estaban Caignard de la Tour, Schwann, Kützing y Turpin, quienes defendían una teoría vitalística. Como era de esperar, tal teoría no fue aceptada al comienzo. Se necesitaba alguien que pudiera enfrentarse al químico más renombrado de la época, Liebig, quien preconizaba una teoría vaga, pero acorde con el Zeitgeist, el espíritu y el temperamento de la época. Ese contrincante fue

Pasteur quien sabía que para retar a su oponente y derrumbar sus teorías, tenía que oponerlo no sólo con hallazgos e interpretaciones, sino también con energía, talento y convicción.

En 1857 Pasteur publica un verdadero Manifesto, una confesión de creencias basadas en la experimentación, en su Mémoire sur la fermentation appelée lactique, en la que demuestra que la formación de ácido láctico depende siempre de la vida de una bacteria específica. Más tarde confirma que la producción de alcohol y ácido butírico es debida a procesos desencadenados por otras bacterias o por levaduras. Por ello puede afirmar que la fermentación se correlaciona con la vida.

LAS LLAMADAS GENERACIONES ESPONTÁ-NEAS

Por la época (1860) en que Pasteur cumplía 35 años, existían ya muchas ideas sobre la generación espontánea. Fue así como en el siglo XVII, el belga Van Helmont ofrecía una receta para que, espontáneamente, aparecieran ratas (una caja con algunas papas y granos de trigo o queso pero que estuviera tapada con un trapo sucio). Por el mismo año, el italiano Bounomi decía que los maderos podridos engendraban gusanos que, a su vez, engendraban mariposas, ¡de las cuales salían aves! Sin embargo, a comienzos de 1600, el gran fisiólogo inglés Harvey sostenía que omne vivum ex vivo y que no era posible surgir de la nada. En 1750 cuando ya era posible ver los gérmenes gracias a microscopios más potentes. se empezó a cuestionar su origen. Needham sostenía que era posible crear microorganismos a voluntad, mientras que Spallanzani se mantenía fiel a Harvey. En el siglo XIX (1835-1860) fueron otros tantos los predecesores y contemporáneos de Pasteur que intervenieron en la controversia sobre la generación espontánea, unos en pro, otros en contra y los demás, indecisos. Para los proponentes de la generación espontánea, el aire jugaba un papel esencial ya que bastaba dejar un producto orgánico en su presencia para que se alterara. Por entonces, se creía que la vitalidad era una propiedad indestructible y que todos los seres vivientes poseían partes orgánicas eternas en sí mismas, capaces de entrar en las más diversas combinaciones para re-crear la vida.

Tal era el estado del problema en la época de Pasteur, cuando a finales de 1858, Jean Baptiste

Pouchet, experimentador cuidadoso, Director del Museo de Historia Natural de Rouen y miembro de la Academia de Ciencias de París, envía a la misma Academia una memoria titulada Los proto-organismos vegetales y animales nacidos espontáneamente en el aire artificial y en el gas oxígeno. Con esta publicación se inició un duelo científico que duraría 4 años y tendría enormes proyecciones futuras. En tal comunicación Pouchet informaba que a través de la meditación, había encontrado evidencias que mostraban cómo la naturaleza recurría a la generación espontánea para reproducir algunos seres vivientes. Pouchet desconocía, sin embargo, que al defender una convicción personal basada en consideraciones filosóficas, se situaba en terreno movedizo. Sin embargo, se dedicó a estudiar los métodos por los cuales se efectuaba tal generación espontánea y con base en sus experimentos, en los que afirmaba haber tomado todas las precauciones para evitar errores, declaraba estar en condiciones "de hacer nacer animalillos y plántulas en un medio absolutamente desprovisto de aire atmosférico, el cual podría haber aportado el germen de seres organizados...". El método de Pouchet consistía en colocar agua hirviente en un matraz (balón), que sellaba herméticamente y sumergía boca abajo en una cuba de mercurio, de manera que impedía el paso del aire. Cuando el agua se enfriaba, se abría el recipiente, siempre bajo la capa de mercurio; luego se permitía la entrada de aire y se agregaba una pequeña cantidad de infusión de heno (calentada previamente con el fin de privarla de gérmenes). Al cabo de cierto tiempo y a pesar de todas las precauciones, la infusión se enturbiaba y se llenaba de animalillos.

Pasteur, preparado como estaba por sus estudios sobre la fermentación, podía someter a juicio los hallazgos de Pouchet; es más, sentía que era esencial trabajar en el tema. Por ello, los consejos de sus amigos y mentores Biot y Dumas, quienes trataron de disuadirlo, fueron inútiles. Se dirigió entonces a la Academia de Ciencias para reprocharle su aceptación de la nota de Pouchet y recordarle que en las varias comunicaciones que le dirigiera sobre el origen de las fermentaciones, sus esfuerzos se habían centrado en demostrar una directa correlación entre ellas y la presencia y proliferación de organismos vivos. Es más, escribía, había demostrado que cada tipo de fermentación era debida a un organismo diferente, específico y que, por ello, no le era posible

considerar la generación espontánea como un evento normal.

Inmediatamente después y por un lapso de dos años (1860-1861), Pasteur se dedica a trabajar febrilmente sobre el tema; los resultados de sus experimentaciones le permiten enviar 4 memorias. En las 3 primeras se muestra un tanto cauteloso, refiriéndose a las "llamadas" generaciones espontáneas. Luego, convencido de sus hallazgos, se muestra más seguro y suprime la indecisión.

Pero, ¿cuáles fueron los experimentos de Pasteur que le permitieron ganar la controversia? Primero diseñó un aspirador para concentrar las partículas microscópicas provenientes del aire, las cuales quedaban atrapadas en un tapón hecho con algodón soluble en éter y alcohol, y que había sido previamente utilizado por Löwel. Luego disolvía el filtro, recogía las partículas por centrifugación, las lavaba y las observaba al microscopio. Encontró así que había bastoncillos (gérmenes) y ciertas "mucedináceas" (mohos). A continuación preparaba diversas infusiones de material orgánico (las predecesoras de los medios de cultivo), las colocaba en matraces (balones) de vidrio y las calentaba hasta la ebullición para librarlas de gérmenes (es decir, las esterilizaba). Si se cerraban los cuellos de los balones a la llama, las infusiones permanecían traslúcidas. Si los quebraba, se enturbiaban. Al romper los cuellos y admitir aire, éste vehiculizaba gérmenes capaces de proliferar a su amaño en las infusiones. Pouchet creía haber tomado todas las precauciones con su cuba de mercurio, pero su adversario demostró que sobre la superficie del mercurio, había una capa de polvo cargada de gérmenes y que éstos últimos eran los que enturbiaban las infusiones por "generación espontánea".

A pesar de la anterior evidencia, Pouchet se enfrentó a Pasteur basado en los experimentos anteriores de Gay-Lussac que revelaban cómo una sola burbuja de aire es capaz de introducir la putrefacción en la materia orgánica. ¿Cómo era posible, entonces, que en el aire hubiese espacio para tantos gérmenes? De ser así, jéste se encontraría tan repleto de microorganismos que tendría la misma densidad del hierro! Esta interpelación le sugirió a Pasteur la idea de estudiar el aire tomado a varias alturas. Llevó entonces a diversos lugares varios matraces preparados como quedó dicho. Allí quebraba sus cuellos con una pinza larga, calentada al rojo vivo, elevaba los brazos para evitar el polvo de su

traje v daba entrada al aire. Inmediatamente, sellaba de nuevo los recipientes y los transportaba hasta el incubador de su laboratorio en la Escuela Normal. Muchos de los balones permanecían sin alteración y correspondían a sitios desprovistos de corrientes de aire o que estaban a gran altura, por ejemplo, los Alpes (2.000 m). Los matraces que se alteraban generalmente provenían de lugares llanos, cercanos a sitios de labranza. Pero Pouchet tampoco cedió a estas nuevas demostraciones. Condujo entonces sus propios experimentos con balones abiertos a gran altura (3.000 m), en los Pirineos, donde el aire tiene que estar libre de gérmenes. Una vez más, sin embargo, la mayoría de las infusiones se enturbian, por "generación espontánea". ¿La razón? Pasteur arguye que abrir los cuellos de los balones con una lima, como lo hace su adversario y no con su método, el de la pinza, posibilita la entrada de gérmenes contaminantes presentes en la limadura desprendida durante el proceso. Esto explicaría las diferencias.

A esta altura de la controversia, la Academia de Ciencias ha nombrado ya dos comisiones para que resuelvan "de una vez por todas", el asunto de la generación espontánea. La segunda de ellas se reúne en el laboratorio de Chevreul en el Museo de Historia Natural. Pasteur se presenta con 60 matraces, algunos modificados de acuerdo a las sugerencias de su amigo Bálard, los célebres balones con cuello ondulado, como de "cisne". Demuestra allí que al abrir los balones de cuello recto, normal, la contaminación es mayor en los sitios de más tráfico (anfiteatro, bajo los árboles de la calle) que en sitios altos (domo del Museo). Ninguno de los 4 balones con cuello de cisne se enturbia. El médico inglés y su gran defensor, Tyndall, cataloga de "imperecedero" este experimento por el correcto manejo de las variantes y la claridad de los resultados.

Después de la anterior demostración, la Academia cita a Pouchet para que efectúe sus propios experimentos frente a los miembros de la comisión. Pasteur convencido -tal vez en demasía- de la certeza de sus resultados, afirma que debe existir un problema con las técnicas de su adversario, aun a la altura de los Pirineos. Pouchet y sus colegas de trabajo, Joly y Musset, sienten que las comisiones de la Academia no han sido imparciales, piensan que las condiciones que les han sido estipuladas son insatisfactorias y por consiguiente, abandonan la con-

tienda, desconociendo la citación del jurado. Pasteur ha vencido en justa lid.

Tres años más tarde (1864), Pasteur es invitado a las célebres *Soirées Scientifiques* de la Sorbona. Ante una multitud expone sus experimentos y hace demostraciones. En forma enfática y convincente anuncia que las infusiones vertidas en sus matraces han permanecido "mudas" (estériles) porque él ha evitado la única cosa que el hombre no sabe cómo producir. Porque ha impedido que entren los gérmenes que flotan en el aire y, en tal forma, ha protegido las infusiones de "...la vida, porque la vida es germen y el germen, vida...".

En ciencia, no existe caso juzgado y las verdades del pasado pueden ser retadas en el futuro. Es así como el tema de la generación espontánea, vuelve a surgir años más tarde. En 1872 y en Inglaterra, Bastian publica un extensísimo libro sobre el comienzo de la vida y los orígenes de la transformación de los organismos inferiores. Sus experimentos son hechos con orina calentada (50°C) y, por lo tanto, supuestamente libre de gérmenes; sin embargo, si el pH normalmente ácido de la orina se cambia adicionando unas gotas de soda, las muestras se enturbian al ser expuestas al aire. Es este un hallazgo importante que cuestiona los de Pasteur y que. en cierta forma, introduce de nuevo el caos. Pasteur pierde la calma y estudia todos los aspectos pues su contrincante es un investigador de trayectoria. Después de mucho pensar, encuentra una diferencia crucial: la temperatura a la cual se calientan las infusiones que, en su caso, es mayor (120°C) que la empleada por Bastian. Nace así la necesidad de esterilizar siempre a altas temperaturas. Afortunadamente por esta época también Tyndall se ha ocupado del tema y al publicar su libro sobre la relación entre la materia orgánica que flota en el aire, la putrefacción y la infección, demuestra que el poder de la atmósfera para generar vida bacteriana, marcha de la mano con su contenido en polvo, en el cual se encuentran los gérmenes. Estos son hallazgos de gran importancia que marcan el final de la teoría.

Sin embargo, quedaba por explicar la razón por la cual se contaminaban los matraces de Pouchet en los Pirineos y no los de Pasteur. Lo que ni Pouchet ni el propio Pasteur sabían en su momento, es que existen formas bacterianas completamente resistentes al calor. En efecto, 15 años después (1876) de concluida la controversia sobre la generación espon-

tánea, Davaine describe en un germen frecuentemente aislado del heno, el *Bacillus subtilis*, estructuras denominadas "esporos" que no son destruidas por temperaturas altas. Retrospectivamente, puede verse que el problema residía en el tipo de infusiones empleadas por los dos contrincantes, ya que Pouchet recurría al heno (contaminado con esporos termorresistentes de *B. subtilis*), mientras que Pasteur nunca usó el heno. Si el primero se hubiese mostrado más agresivo y hubiese reproducido sus experimentos ante la comisión, el segundo se habría visto en apuros para explicar el origen de la contaminación microbiana a tan gran altura. Pero la fortuna, aquélla que, según Pasteur, sólo favorece las mentes alertas, vino en su ayuda temporalmente.

COMENTARIOS

Ya por fuera de la contienda, es posible constatar la certeza del método experimental de Pasteur. Éste controla a su antojo la entrada y salida de los gérmenes. Juega con las variaciones, con los detalles y bajo condiciones exactamente iguales, la única variable que permite es el contacto de las partículas de aire con el caldo nutritivo. La ciencia experimental acaba de ser perfeccionada.

Desde otro ángulo, es apenas lógico que la controversia sobre la generación espontánea rebasase los confines del laboratorio. En efecto, la política entra en juego con igual rapidez que los microbios penetran en los matraces. Además, en 1861 al publicarse la traducción del libro de Charles Darwin. The Origin of Species, la generación espontánea es integrada de inmediato a la querella sobre la evolución. Y hay mucho de religión y de política en este asunto. Es así como se entiende la razón por la cual Pouchet no abrazara el darwinismo por considerarlo una actitud atea. Por su parte, Pasteur, aunque creyente, estima que la cuestión no es tan importante. Enfáticamente afirma que está cansado de tanta solución intuitiva y piensa que ha llegado la hora en la cual la ciencia, el verdadero método experimental, recupere sus derechos y los ejerza. Afirma que no se trata de filosofía, ateísmo, materialismo ni espiritualismo y que, como sabio, el dilema realmente no le importa. "... Es una cuestión de hecho: ... Abordé el problema sin ideas preconcebidas, tan dispuesto a reconocer que existían generaciones espontáneas si la experiencia me hubiese impuesto tal conclusión, como

estoy ahora convencido de que, quien afirma tal cosa, lleva los ojos vendados...".

Es interesante anotar que Pasteur nunca negó la existencia de la generación espontánea. Señaló simple pero enfáticamente, que no existían circunstancias conocidas que permitieran afirmar que los seres microscópicos venían al mundo sin una semilla, sin padres similares a ellos. Afirmó que los que creían así estaban viendo visiones pues habían conducido mal sus experimentos o introducido involuntariamente factores de error.

En 1950 Dubos, uno de los más ilustres biógrafos de Pasteur, al terminar el capítulo en el que analiza el proceso de la controversia sobre la generación espontánea, opina lo siguiente: "El hombre nunca abandonará -y probablemente no debería hacerlo-, sus esfuerzos para inducir a partir de la caótica inercia de la materia inanimada, la dinámica y organizada secuencia de los procesos vitales...". Estas palabras son perfectamente aplicables al actual entorno científico, cuando provisto de gran conocimiento, el hombre trata de comprender la forma como en ese momento único y crucial del comienzo de la vida en el universo, la materia se organizó a partir de los elementos existentes en ese mundo primitivo, todo él en ebullición.

SUMMARY

LOUIS PASTEUR: IN MEMORIAM

A description is presented of the experiments on which Pasteur based his conclusion than no spontaneous generation exists; some of the qualities of this researcher are emphasized such as originality, independence of criterion, perseverance, dedication, broadmindedness and interest in serving other people; by applying it rigurously, Pasteur greatly contributed to the advancement of the scientific method; besides, he can be considered the founder of microbiology.

BIBLIOGRAFÍA

1. COLLINS HM. The Golem: What everybody should know about Science. The germs of dissent: Louis Pasteur and the origins of life. New York: Cambridge University Press, 1993: 79-90.

- 2. DE KRUIF P. Cazadores de microbios. México: Editorial Diana, 1957: 151-187.
- 3. DUBOS RJ. Louis Pasteur- Freelance of science. Boston: Little Brown and Co. 1950: 1-418.
- 4. DUBOS RJ. Pasteur's dilemma: the road not taken. ASM News 1974; 40: 703-709.
- HEMPHILL ML. Pasteur at Arbois. ASM News 1977; 43: 298-299.
- LATOUR B. Pasteur y Pouchet: heterogenia de la historia de las Ciencias. En: SERRES M. Ed. Historia de las Ciencias. Madrid: Editorial Cátedra, 1991: 476-501.
- 7. LWOFF A. Conference. ASM Pasteur's sesquicentennial celebration, New Orleans, 1972. Archives, Am Soc Microbiol.
- 8. MIRALTA J. Pasteur: el genial intruso. Barcelona: Salvat Editores. 1945: 253-219.

- 9. PORTER JR. Louis Pasteur sesquicentennial (1822-1972) Science 1974; 178: 1242-1254.
- 10. PORTER JR. Louis Pasteur: Achievements and disappointments. *Bact Rev* 1961; 25: 389-403.
- 11. RAICHVARG D. Louis Pasteur, L'empire des microbes. Gallimard, 1995.
- 12. ROBLEDO E. Louis Pasteur. Antioquia Médica 1950; 1: 10-19.
- 13. VALLERY-RADOT P. Ouvres de Pasteur: Fermentations et générations dites spontanées, Tome II. París: Masson et Cie, Editeurs. 1922: 210-294.
- 14. VALLERY-RADOT P. La concatenación de los descubrimientos de Pasteur. Symposium CIBA, 1957; 5: 138-147.

