

Los comienzos de Louis Pasteur en el laboratorio

PROF. ROLF KÜMMERLIN*

A mediados del siglo XIX, las parturientas que llegaban al Hospital General de Viena rogaban de rodillas no ser internadas en una de las salas de su servicio de obstetricia, que era temida porque se sabía que la mayoría de las mujeres allí atendidas morían de fiebre puerperal. Unos cien años después, en Viena, al igual que en las principales ciudades europeas, las muertes por esta causa eran muy escasas.

Entre estos dos extremos se ubica la historia del desarrollo de la llamada "teoría del germen", una magnífica pieza de creatividad científica que permitió asociar el efecto (las enfermedades) con la invisible causa (los micro-organismos o gérmenes). Sus implicancias en la sociedad fueron de enorme trascendencia, ya que la mística y el misterio que rodeaban las prácticas médicas antiguas se tornaron en una racional comprensión de las enfermedades que amenazan a la humanidad y modificaron, consecuentemente, el modo de enfrentarlas.

El proceso científico que llevó a la creación de toda esta nueva medicina se logró con un número de pequeños pero identificables aportes. Implícito en las palabras "teoría" y "prueba" se encuentra el desarrollo metodológico, que en aquellos tiempos no tenía la dinámica a la que nos ha acostumbrado la acelerada evolución de la tecnología actual. Sin embargo, y aceptando la profunda significación que tuvo esa creación científica, ¿no sería útil analizar sus etapas, en la esperanza de

*Prof. Rolf Kümmerlin. Profesor del Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

poder repetirlas en otros eventos de similar impacto social? Cualquier análisis en este sentido debería mirar hacia los métodos de la biología, la química y la física utilizados por los pioneros de la ciencia en sus laboratorios.

Al así hacer, aparecen otros elementos que, si bien más subjetivos y a veces de difícil ponderación, contribuyen igualmente a la creatividad. Tal como se reconoce que hay una componente artística en la ciencia, no cabe duda de que son ingredientes insustituibles de la personalidad del científico exitoso la intuición que aflora en aventuradas hipótesis, la devoción con que se cultivan las ideas y la perseverancia que requiere la interminable repetición de difíciles experimentos, muchas veces de frustrantes o inesperados resultados

El genio científico de Louis Pasteur emerge con fuerza cuando se recorren los aspectos más relevantes de su carrera académica. Comenzó su primer trabajo de investigación a los 23 años, como requisito para doctorarse en química en la Escuela Normal Superior de París, y lo hizo de una manera por demás convencional. Se acepta que en la ciencia se reconocen temas que se ponen de moda, tal como en la evolución de la ropa, el lenguaje o las actitudes. Eso es tan válido hoy como lo fue en tiempos de Pasteur. En el París de 1840 y años posteriores estuvo de moda que los químicos estudiaran los cristales, y Pasteur así lo hizo. Pero eso fue lo único que entendió casi como una imposición del medio y, si bien siempre se atuvo a una aplicación racional del método que había adquirido en sus años de estudiante en la Escuela Normal, sus enfoques fueron siempre marcados por su inconformismo y su apasionado apego a lo que llamó "este maravilloso método experimental del que uno, en rigor, puede decir que aunque no satisfaga cualquier propósito, rara vez lo aleja de él".

El problema que Pasteur decidió estudiar resultó de una observación del químico alemán Mitscherlich, quien había observado que había algo extraño en los cristales de ácido tartárico del "tártaro" formado durante la fermentación del vino. Entre los grandes cristales de este ácido se encontraban ocasionalmente algunos más pequeños, como manojos de aguja, que probaron ser otra forma del ácido; fue llamada ácido paratartárico o "racémico", para recordar su origen a

partir de la uva. Aunque ambos tipos de cristales parecían idénticos en su composición y comportamiento químico, en su forma cristalina, en su peso específico, en su misma doble refracción y en otras características, una solución de tartrato rotaba el ángulo de la luz polarizada, lo que no sucedía con una solución de racemato. Sobre esta base, Pasteur razonó que no podían ser idénticos. Su enfoque del problema fue claro, y el patrón de estudio que siguió puede ser encontrado en todas sus investigaciones posteriores. Primero identificó el problema con precisión. Luego revisó cuidadosamente cuanto hubiese de información anterior sobre el tema, y sólo entonces aventuró una posible respuesta. No cabe duda de que Pasteur siempre trabajó desde la teoría hacia la práctica, y no en el sentido inverso. Alguna vez declaró muy enfáticamente: "Sin teoría, la práctica es sólo una rutina dirigida por la fuerza del hábito. Sólo la teoría puede originar y desarrollar el espíritu de la invención". La imagen frecuente del científico sentado en su laboratorio, observando la naturaleza, colectando datos experimentales y luego inventando una teoría que se acomode a los hechos observados, en modo alguno se asemeja al trabajo de Pasteur.

En el caso del racemato y el tartrato, Pasteur postuló que debería haber una diferencia en la forma de los cristales. Con gran destreza y paciencia preparó unos cristales y los observó bajo el microscopio. Lo que vio no lo habían notado anteriores observadores: cada cristal tenía una cara más pequeña (faceta) que en el caso del tartrato estaba orientada siempre en la misma dirección; en cambio, en el racemato se observaban dos tipos de cristales, con facetas en dos direcciones, formando una mezcla de cristales con facetas en los dos sentidos. La diferencia era tan clara que Pasteur pudo separar ambos tipos manualmente. De esa forma, Pasteur tuvo entonces dos tipos de cristales de racemato, uno que se veía diferente a los de tartrato y otro que parecía idéntico. Y era idéntico, porque rotaba la luz polarizada en la misma forma y cantidad. El otro racemato rotaba la luz en el sentido inverso. Así pudo explicarse por qué el racemato no en apariencias era ópticamente activo, ya que ambos cristales, estando en mezcla, anulaban el efecto óptico.

Su descubrimiento, obtenido pacientemente en condiciones muy precarias de trabajo, le llenó de legítimo orgullo. Su laboratorio era muy modesto y pequeño, y Pasteur no sólo tenía que preparar por sí mismo todos los productos químicos que usaba, sino además construir con sus propias manos el polarímetro y el goniómetro con los que hacía sus observaciones y mediciones. No tenía más ayuda que el estímulo de sus profesores y compañeros.

Habiendo superado esta primera etapa, Pasteur comprendió que iniciaba una ruta de trabajo al impulso de su personal ambición y gran fe en su destino. Este camino sería el que lo llevaría a Estrasburgo, donde se inició en la docencia, y encontró a una mujer dispuesta a dedicarle toda su vida.

Las nuevas áreas de investigación lo condujeron a cuestionarse la naturaleza de la vida. Aunque la vida aparentemente no tenía relación con los cristales inanimados con que él trabajaba, Pasteur había notado una inverosímil similitud. Observó que un hongo, al desarrollarse en unos cristales de racemato de calcio, los convirtió en ópticamente activos. Aún más, se dio cuenta de que este cambio se hacía más pronunciado con el tiempo. Pudo demostrar que el hongo destruía aquellos cristales de racemato que rotaban la luz polarizada a la derecha. Es decir, este ser vivo prefería una substancia de forma determinada y rechazaba los otros constituyentes del racemato.

Pasteur postuló entonces que los seres vivos podían producir compuestos asimétricos ópticamente activos, y que un estudio de la asimetría molecular podría eventualmente arrojar alguna luz sobre el problema del origen de la vida. La peculiar selectividad de los procesos vivientes por una u otra de las formas isoméricas de la misma molécula, podría ser la manifestación de fuerzas asimétricas del medio ambiente, actuando sobre el organismo vivo durante la síntesis de sus constituyentes celulares.

Según sus propias palabras: "La vida es una función de la asimetría del universo y de las consecuencias de este hecho. El universo es asimétrico, puesto que si todos los cuerpos que integran el sistema solar, desplazándose con sus movimientos individuales, fueran puestos frente a un espejo, la imagen reflejada no podría superponerse sobre la

realidad. El movimiento de la luz solar, el magnetismo terrestre, la oposición que existe entre los polos del imán y entre la electricidad positiva y negativa, son todas resultantes de movimientos y acciones asimétricas. La vida está dominada por acciones asimétricas. Incluso puedo imaginar que todas las especies vivas son primordialmente, en su estructura, en sus formas externas, funciones de la asimetría cósmica".

Pasteur era lo suficientemente temerario para intentar experiencias en estas materias eminentemente especulativas, y en su modesto laboratorio empleó poderosos imanes para ejercer una influencia asimétrica durante la formación de cristales. Inventó un mecanismo de relojería para invertir el movimiento natural de los rayos solares sobre plantas que mantenía en maceteros, tratando de descubrir si en un mundo tan artificial donde el sol saliera por el oeste y se pusiera en el este, las sustancias ópticamente activas serían iguales a las naturales o tendrían formas opuestas.

En Estrasburgo Pasteur cosechó honores y premios, y el dinero ganado de esta manera lo invertía en materiales de trabajo para su laboratorio, sacrificando de esta forma sus necesidades hogareñas. Su precaria situación económica y su deseo de superación lo llevaron a aceptar una oferta de trabajo en la Universidad de Lille, como Decano de la Facultad de Ciencias. Esta era la senda convencional de progreso que él se había trazado: los primeros frutos de una mente original y no convencional.

Estudió problemas diferentes, pero mantuvo su interés por los cristales, lo que entendía como una bella y lógica progresión de su trabajo. Sin embargo, su contrato universitario establecía que debería centrar sus enseñanzas y actividades de investigación en los intereses de la zona de Lille. Siguió esta exigencia rigurosamente, y el hecho de enseñar las aplicaciones industriales de la química influyó decisivamente en su enfoque filosófico de la ciencia. Comprendió que la ciencia pura y la ciencia aplicada no podían ser incompatibles, como muchos postulaban, y llegó a decir: " No hay dos clases diferentes de ciencia; hay ciencia y hay aplicaciones de la ciencia".

Cuando un industrial de la zona que fabricaba alcohol a partir de jugo de remolacha le solicitó resolver un problema de contaminación

del alcohol con sustancias ácidas indeseables, Pasteur debió involucrarse en una materia que le resultaba totalmente desconocida. Observó, como ya lo habían hecho otros anteriormente, que en el jugo fermentante se veían glóbulos de levadura, pero en los jugos alterados observó además otras estructuras que no parecían levadura. Cuando con su polarímetro encontró que el jugo era ópticamente activo, recordó su postulado de que sólo los seres vivos podían producir sustancias ópticamente activas, por lo que sostuvo que la fermentación no podía ser un proceso meramente químico, como pensaban eminentes químicos de la época, entre ellos Berzelius y Liebig; tenía que ser causado por "fermentos vivientes". Según Pasteur, las levaduras encontradas en las fermentaciones alcohólicas y los otros cuerpos asociados a la producción de ácidos no eran catalizadores inanimados, sino elementos vivos. Sostuvo que el jugo de remolacha era realmente un alimento para estos seres vivos, y que el alcohol y los ácidos eran productos de sus procesos metabólicos. De este modo, muchos procesos considerados hasta entonces de naturaleza puramente química eran, según él, de origen biológico. Sin duda, estos pensamientos constituyen el eslabón entre su vida científica anterior, dedicada a la química, y su trabajo posterior en la biología, donde hiciera tan significativas contribuciones.

En 1857 encontramos a Pasteur como director asistente de estudios científicos y administrador general de su alma mater la Escuela Normal Superior de París. Tomó con gran seriedad su trabajo científico, que tuvo que matizar con diversas responsabilidades administrativas; sin embargo, a pesar del cargo que ocupaba, no disponía de grandes facilidades para realizar sus investigaciones. Por lo demás, en aquel tiempo la tradición señalaba que las grandes cosas comienzan de pequeño, y muchos de los químicos y físicos franceses del siglo 19 eran orgullosos ejemplos de descubrimientos hechos en oscuros y pequeños laboratorios de modesto equipamiento.

Durante los primeros años después de su regreso a París, debió trabajar sólo y fabricar muchos de sus instrumentos. Encontró en el ático del edificio dos pequeñísimas habitaciones vacías y las convirtió en un laboratorio, que equipó con el dinero del presupuesto familiar. Los estudios sobre fermentación alcohólica comenzados en Lille fueron

completados en estas modestas dependencias. Eventualmente le designaron un ayudante con dedicación exclusiva al trabajo de investigación, lo que era una curiosidad contractual en Francia en esa época. Además, le permitieron trasladar su laboratorio a un primitivo "pabellón", que consistía en cinco pequeñas piezas, en un edificio de dos pisos que había sido originalmente construido para el arquitecto de la escuela y sus empleados. Amontonado en ese espacio y con escasos recursos financieros, improvisó una estufa bajo la escalera que conducía al segundo piso. Sólo se podía entrar gateando, pero en ese estrecho recinto Pasteur pasaba diariamente largas horas observando su material de estudio.

Después de unos pocos años, el laboratorio fue ampliado mediante una construcción adicional, y de estas pocas y modestas habitaciones salieron los estudios que hicieron famoso el nombre de Pasteur en muchos campos del conocimiento. Hay quienes distinguen dos etapas en la prolífica actividad de Pasteur en París: la que se extiende de 1857 hasta alrededor de 1877, en que buscó con apasionamiento respuestas a sus inquietudes sobre el origen de la vida y las causas de diversos fenómenos mediados por los invisibles seres vivos que no cesaban de maravillarlo a medida que avanzaba en su conocimiento; y su trabajo posterior en que, una vez afianzada la teoría del germen, dedicó la mayor parte de su energía al estudio de las enfermedades animales y humanas, hasta fines de la década de 1880.

Una impactante demostración de su capacidad deductiva y de su destreza para validar sus hipótesis en el laboratorio con simples experimentos lo constituye su participación en la controversia sobre la generación espontánea de la vida. Se recuerdan sus escritos a Chappius, un amigo y confidente, a quien le manifestó su convencimiento de que sus estudios sobre la fermentación estaban conectados con el misterio impenetrable de la vida y la muerte y que por ello se sentía capaz de resolver lo que llamó "la celebrada cuestión de la generación espontánea". La "celebrada cuestión" era, en realidad una celebrada respuesta a cómo se generó la vida. En aquel entonces era de general aceptación que los gusanos que se observaban en la carne podrida, los cocodrilos que emergían de los pantanosos bancos del Nilo y muchos

otros seres vivos se generaban en los lugares donde se les veía aparecer. Se proponían recetas, con gran exactitud, para la creación de ratones a partir de sacos, harina, polvo y otros pocos ingredientes que se observaban en el piso de las panaderías plagadas de ratones.

Anteriormente, el sacerdote italiano Lázaro Spallanzani había tratado de invalidar la generación espontánea de los "animalículos" que van Leeuwenhoek había observado sin poder explicar su origen. El italiano había colocado diferentes semillas en unos tubos con agua y había hervido estas mezclas. Luego selló herméticamente algunos de ellos, otros los tapó con un género y un tercer grupo los dejó abiertos. Luego de sus observaciones al microscopio, encontró que el número de animalículos que había en los tubos dependía del acceso de aire al interior. Esto lo llevó a postular que el aire acarrea los organismos y/o hacía crecer a los que ya estaban adentro. Sus ideas no tuvieron gran acogida, toda vez que la teoría de la generación espontánea era de validez indiscutida.

Félix Pouchet, a la sazón director del Museo de Historia Natural de Rouen, declaraba enfáticamente que "los animales y las plantas podían ser generadas en un medio absolutamente libre de aire". La situación era propicia para una confrontación, y Pasteur, quien gustaba de convertir la ciencia en un campo de batalla, no iba a dejar pasar la oportunidad de enfrentar a un enemigo tan idealmente vulnerable. Pouchet había gatillado su agresividad intelectual, y Pasteur estaba dispuesto a demostrar públicamente la superioridad de sus técnicas.

Para derrotar a su oponente, diseñó experimentos de tal simpleza que sus resultados fueron realmente demoledores. Los más conocidos son aquellos en que usó "frascos de cuello de cisne", matraces de vidrio a los que alargó el cuello y curvó en forma de S. Sin taponar su boca, colocó en ellos soluciones fermentables, las que luego calentó fuertemente para destruir toda forma de vida.

Dejó estos matraces en reposo por varios meses, sin que se apreciara alteración alguna en los líquidos. El microscopio de Pasteur demostró que no contenían seres vivos y no se producía fermentación. Sin embargo, cuando agitaba los frascos o les quebraba sus largos cuellos, los líquidos se enturbiaban. Estos experimentos confirmaron la

creencia de Pasteur de que la materia viva del aire del laboratorio era lo que causaba la fermentación. Cualquier germen que pudiera ingresar al frasco quedaba atrapado en la curva del cuello y no alcanzaba al líquido.

Pouchet y sus colaboradores argumentaron que si, como decía Pasteur, el aire era capaz de fermentar cualquier material fermentable, debería tener tantos gérmenes que sería muy denso y duro como el hierro y no permitiría caminar a través de él. Pasteur no sólo respondió que el aire no era homogéneo en su cantidad de gérmenes, sino diseñó uno de sus experimentos más pintorescos para demostrar la validez de su aseveración.

Con un grupo de sus colaboradores viajó a las montañas del Jura, llevando setenta y tres frascos con soluciones estériles y herméticamente sellados. Al pie de los montes, y lejos de la influencia que podrían tener las casas o los animales, abrieron cuidadosamente veinte de ellos. Ocho se enturbiaron, demostrando la entrada de gérmenes con el aire. Pasteur pensaba que, a medida de ir subiendo, la cantidad de gérmenes en el aire disminuiría. A 850 metros de altura sólo cinco de veinte frascos mostraron turbidez y en la cima del monte esto ocurrió en un solo frasco.

Pouchet resultó un tenaz oponente, y a riesgo de su vida y la de sus ayudantes, trepó al Monte Etna y trató de imitar el experimento de Pasteur. Probablemente por su mala técnica de trabajo, llegó a una conclusión exactamente opuesta. Sólo después de años de discusión, reconoció sus limitaciones metodológicas y la validez de los resultados de Pasteur.

Pasteur no perdió la oportunidad de humillar públicamente a su rival, lo que le producía una íntima satisfacción, en particular cuando lo hacía frente a una audiencia académica. En una "velada científica" en la Sorbona, ante un público brillante, que incluía celebridades como Alejandro Dumas, George Sand y la Princesa Matilde de Borbón, Pasteur señaló los antecedentes históricos de la controversia, los aspectos técnicos de sus experimentos, su significación y sus limitaciones.

Mostró a los asistentes sus frascos con cuellos de cisne y formuló su conclusión con estas palabras de singular belleza: " Y, por

lo tanto, caballeros, yo podría señalar este líquido, y decirles que he tomado mi gota de agua de la inmensidad de la creación, y que la he tomado plena de los elementos apropiados para el desarrollo de seres inferiores. Y espero, observo, y le pregunto, rogándole que recomience para mí el hermoso espectáculo de la creación primera. Pero es mudo, mudo desde que comenzaron estos experimentos hace varios años; es mudo porque lo he aislado de la única cosa que el hombre no puede producir, de los gérmenes que flotan en el aire, de la Vida, porque la Vida es un germen y un germen es la Vida. La doctrina de la generación espontánea no se recuperará jamás del golpe mortal que le asestó este simple experimento".

La actividad científica de Louis Pasteur, cuyos comienzos reseñan las páginas precedentes, estuvo siempre marcada por los rasgos de su personalidad ya expresados en esas etapas iniciales. Sus innumerables aportes a la ciencia bacteriológica, ya sea en la comprensión de sus fundamentos teóricos como en la aplicación de esos conocimientos a la industria, la medicina y la agricultura, son la feliz consecuencia de la acción sinérgica de su capacidad intelectual y de su amor al estudio.

Recordando las grandes satisfacciones obtenidas en su trabajo, y expresando su confianza en el poder del método experimental para mejorar el destino del hombre, decía a sus estudiantes: "Jóvenes, tened fe en esos métodos poderosos y seguros, de los cuales no conocemos todos los secretos. Y cualquiera sea vuestra carrera, no os dejéis amedrentar por la tristeza de ciertas horas por las que pasan las naciones. Vivid en la serena paz de los laboratorios y las bibliotecas..."

REFERENCIAS

DUBOS, R. (1962) *Pasteur y la ciencia moderna*. Eudeba, Argentina, 148 pp.

REID, R. (1974). "Microbes and men". *Saturday Review Press*, Dutton, N. Y. 170 pp.

THIMANN, K.V. (1955). "The life of bacteria: their growth, metabolism and relationships". Macmillan, N. Y. pp. 4-31.

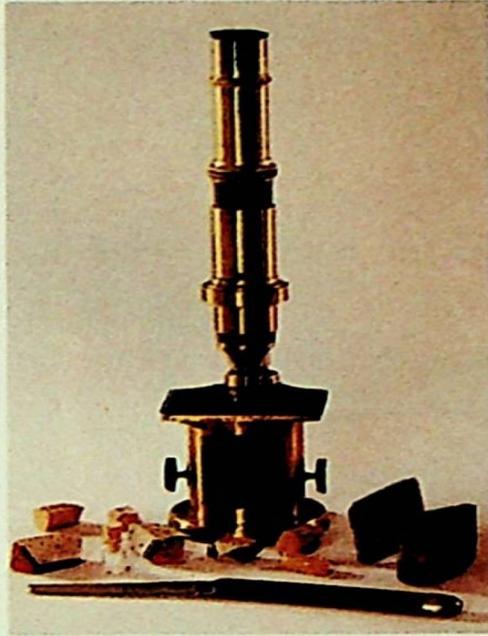


Fig.1. Microscopio utilizado por Pasteur en sus estudios cristalográficos (1846-1848)*.

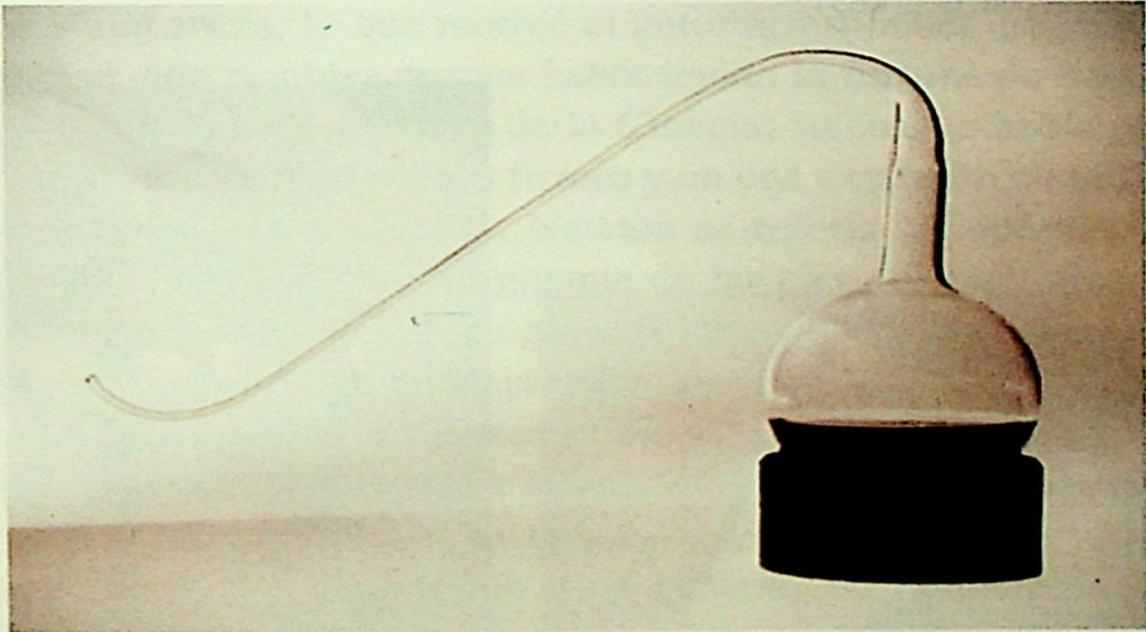


Fig.2. Matraz "cuello de cisne" utilizado por Pasteur para desmentir la generación espontánea de la vida. El líquido contenido en el matraz se mantiene inalterado desde 1860.

***Todas las fotografías de este artículo y los siguientes sobre Pasteur corresponden a reproducciones del panel de exhibición del Museo Pasteur de Paris, por gentileza de Alianza Francesa de Concepción.**



Fig.3. Aparato usado por Pasteur para cultivar levaduras de cervecería (1863).

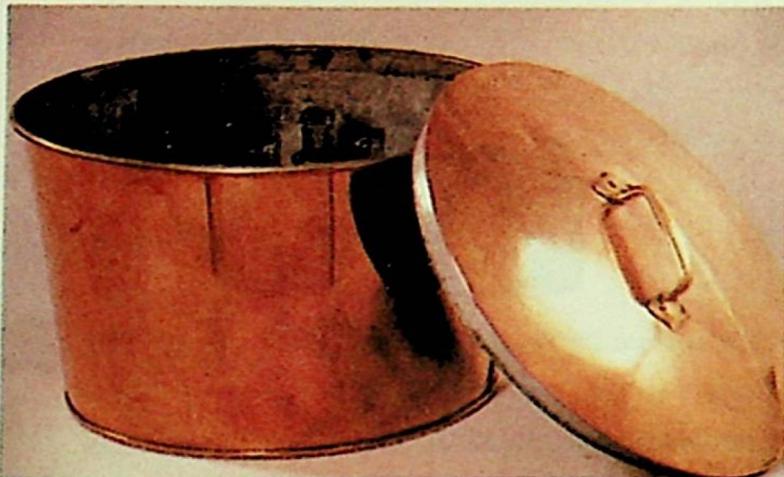


Fig.4. Baño María usado por Pasteur para pasteurizar botellas de vino (1866).



Fig.5. Reactor anaerobio usado por Pasteur en sus estudios sobre la fermentación (1861).