Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde 1999

Rubriek: geschiedenis van de geneeskunde

Bol P. Twee hoofdstukken uit de medische geschiedenis van de afgelopen eeuw: antibacteriele therapie.

Ned Tijdschr Geneeskd 1999; 143: 365-9 (febr).

Twee hoofdstukken uit de geschiedenis van de antibacteriële therapie

P. Bol

"Le hasard ne favorise que les esprits préparés"

Louis Pasteur

Toen in 1935 het sulfonamide Prontosil op de markt kwam, was de zoektocht van de chemici naar niet-toxische synthetische antimicrobiële middelen al een halve eeuw oud.[1,2] Op het gebied van de parasitologie waren al de nodige successen geboekt met middelen tegen trypanosomiasis, leishmaniasis en malaria; ook de therapie van trepanomatosen gelukte.[1,3] Maar de behandeling van bacteriële infecties, vooral van acute gevallen van sepsis, wilde maar niet slagen. Weliswaar had Fleming zes jaar eerder het penicilline ontdekt, maar dit middel viel nog niet op grote schaal te vervaardigen.[4-6] We zullen zien dat de 'ontdekking' van antibacteriële middelen niet zomaar 'uit de lucht kwam vallen', zelfs niet in het geval van de schimmels op Fleming's agar-platen.

Sulfonamiden

Het eerste op grote schaal op de markt gebrachte antibacteriële middel was een sulfonamide; in strikte zin geen antibioticum maar een chemotherapeuticum.[2,7] De samensteller, Gerhard Domagk, werd in 1895 geboren in de omgeving van Brunswijk; hij ging in augustus 1914 geneeskunde studeren in Kiel (afbeelding 1).[2,7]

Kort daarna brak de eerste wereldoorlog uit, de student kwam onder de wapenen en raakte in 1915 gewond. Hij werd na herstel bij de medische dienst ingedeeld waar hij kennis maakte met de verschrikkingen van cholera, tyfus en dysenterie.[1] Dit deed hem besluiten om zich na het beëindigen van zijn medische studie (1921) te wijden aan de strijd tegen de infectieziekten. Na docentschappen in Griefswald en Münster werd hij in 1927 hoofd

van het laboratorium voor experimentele pathologie en bacteriologie van I.G. Farben in Elberfeld bij Wuppertal.[2,3] (I.G. Farben was een kartel (Interessen-Gemeinschaft) waarin o.a. Agfa, Bayer en Basf meededen). Waarom had een kleurstoffen-industrie een dergelijk op de humane pathologie gericht laboratorium?

Dat had te maken met de grote invloed van Paul Ehrlich's werk (Nobelprijs 1908). Via het beproeven van kleurstoffen had hij immers tegen syfilis de middelen Salvarsan (arsphenamine) en Neosalvarsan ontwikkeld, een zegen na de tevoren gebruikelijke kwiktherapie.[3] Zijn oproep om in deze chemische hoek systematisch verder te zoeken naar anti-infectieuze middelen vond gehoor bij I.G. Farben; ongetwijfeld ook uit welbegrepen eigenbelang. Want ondanks het feit dat de impact van infectieziekten geleidelijk aan het verminderden was, lag hier toch een grote markt, zoals ook vandaag de dag nog.

Click online to enlarge, and a second time to enlarge further

Rood maar niet dood

Domagk richtte zich vooral op de 'kokken', o.a. de veroorzakers van erysipelas en de gevreesde gram-positieve sepsis en shock, zoals kraamvrouwenkoorts.[2,3] Hij infecteerde muizen met strepto- en stafylokokken en stelde ze vervolgens peroraal of subcutaan bloot aan een bonte reeks van kleurstoffen. De diertjes namen alle kleuren van de regenboog aan, om vervolgens toch te overlijden. In 1932 beproefden zijn assistenten Mietzsch en Klarer zogenoemde azo-kleurstoffen, waarin twee via een dubbele binding gekoppelde stikstofatomen voorkomen.[3,8]

Reeds vanaf 1909 waren allerlei azo-kleurstoffen beproefd tegen streptokokkeninfecties, zonder veel succes.2 Van een daarvan, het gele chrysoidine, was in 1913 door Eisenberg de antibacteriële werking gemeld; het bleek echter alleen in vitro werkzaam.[3] Mietzsch en Klarer bonden chrysoidine aan een ander molecuul met een sulfonamidegroep (SO2NH2). Dat laatste was in 1909 door H”rlein was beschreven als een stof die sterk bindt aan textielvezels, waardoor kleurstoffen met deze groep 'was-echt' worden (afbeelding 2).[2,3]

Hun chrysoidine-verbinding bleek naderhand niet nieuw te zijn, ze was al in 1908 door Gelmo beschreven als van belang voor de textielkleuring; maar hij had geen reden ze te beproeven tegen infecties.[2,3] De proeven van 1932 in Elberfeld waren een groot succes. Septische muizen werden rood van het middel maar genazen voortvarend.[2] Toevallig waren er in die periode geen kritieke gevallen van streptokokkeninfecties rond Wuppertal, maar een moribunde baby van tien maanden met een stafylokokkensepsis kreeg als eerste pati‰nt het sulfapreparaat. Het kind werd vuurrood maar overleefde de sepsis, gelukkig (ook voor Domagk).[2]

Het onderzoeksteam was net zo voorzichtig als Robert Koch waar het op publiceren aankwam. Drie jaar lang zochten ze intensief naar werkingspectrum en bijwerkingen, alvorens technische en klinische details van het middel te openbaren.[2,3,9]

Wondermiddel

De vonst van deze 'magic bullet' sloeg in als een bom. Over de hele wereld werd Prontosil beproefd. In Groot Brittannië gaf Colbrook het tegen kraamvrouwenkoorts, waar in die tijd jaarlijks nog zo'n duizend Britse vrouwen aan stierven.[3,10] De letaliteit daalde van 23 tot minder dan 5%. Ook bleek het middel effectief tegen erysipelas.3 Cellulitis door wondinfectie bleek ook met Prontosil te bestrijden; Domagk's eigen dochter was een van de eerste patienten die ermee genazen.[3] In de zomer van 1935 diende Long het middel toe aan de zoon van president Roosevelt, die een ernstige streptokokkeninfectie had gekregen vanuit een sinusitis; hij genas.2 Merkwaardigerwijs beschrijft Domagk in zijn publicatie van 1935 dat de pneumokok (inmiddels Streptococcus pneumoniae geheten) niet gevoelig is; anderen vonden daarna dat lobaire pneumonie goed met Prontosil te behandelen was.[2,9] Verder schreef hij dat de stof in vitro onwerkzaam was; we weten inmiddels waarom.

Want in het Parijse Institut Pasteur vond een onderzoeksgroep van Fourneau al in 1935 dat in het lichaam Prontosil gesplitst wordt en dat de werkzame stof para-amino-benzeen-sulfonamide (sulfanilamide) is, de stof die Mietzsch en Klarer aan hun chrysoidine gekoppeld hadden (afbeelding 2).[2,3,8] Dit maakte het patent van I.G. Farben direct waardeloos en de wereld kon op grote schaal goedkoop het middel gaan

vervaardigen. Spoedig waren er meer dan honderd firma's die sulfapreparaten op de markt brachten.[3,8] De productie van de verschillende sulfonamiden bedroeg in 1974 in de VS bijna 2,5 miljoen kilo.[2]

De chemici hebben namelijk tal van werkzame verbindingen met een sulfonamidegroep weten samen te stellen, die tezamen een breed therapeutisch spectrum beslaan.[1,8] Ook zijn er verbindingen met een SO2-groep i.p.v. een SO2NH2-groep, sulfonen, gemaakt die goed werken tegen sommige zuurvaste bacteriën en die tegen lepra gebruikt worden.[8]

De werking van de sulfonamiden berust op hun competitie met para-amino-benzoëzuur (PABA).2,7,10 Dit is een van de bouwstenen van foliumzuur dat een essentiële rol speelt in de stofwisseling van veel planten en dieren. Organismen met een stofwisseling waarin foliumzuur géén rol speelt, of die kant en klaar foliumzuur opnemen, zijn ongevoelig voor sulfapreparaten. Maar organismen die het zèlf maken, gebruiken sulfonamiden net zo grif als PABA, waardoor weinig tot geen foliumzuur ontstaat; het middel is dus bacteriostatisch.[8,10] In 1940 beschreven Woods en Fildes het competitieprincipe en gaven aan dat veel bredere toepassing mogelijk is dan bij het foliumzuur-antagonisme. Inmiddels zien we competitie als basis voor bijvoorbeeld anti-malaria therapie, bij stollings-antagonisme en het gebruik van methotrexaat bij kanker.[2,8]

Nobelprijs

In 1939 berichtte het Zweedse Karolinska Institutet aan Domagk dat de Nobelprijs voor de geneeskunde aan hem was toegekend.[2,3] Hij nam de uitnodiging voor de uitreiking aan, maar het nazi-regime verhinderde dit; Domagk werd door de Gestapo gearresteerd. Dat jaar waren de vijf Nobelprijzen toegevallen aan zes laureaten, van wie drie Duitsers. De Duitsers mochten de prijs niet aannemen. Dit verbod was ingesteld toen een paar jaar eerder een Nobelprijs was toegekend aan Von Ossietsky die al jaren in concentratiekampen zat en in 1941 in gevangenschap zou overlijden.[3] De nazi's vreesden dat de uitreiking van de prijs aan de drie Duitsers een politieke demonstratie zou worden. Pas in 1947 kon Domagk zijn penning en diploma alsnog in ontvangst nemen, maar het geldbedrag was in 1940 vervallen verklaard en

ging aan hem en zijn laboratorium voorbij.2,3 Hij ging in 1955 met pensioen en overleed in 1964.[2]

King Gustav V of Sweden hands Domagk the certificate and gold medal for the Nobel Prize for Medicine in 1947

Penicillines

Alexander Fleming werd in 1881 geboren op de boerderij van zijn bejaarde vader in Zuid-West Schotland (afbeelding 3).2-5 Hij ging op dertienjarige leeftijd naar Londen en woonde bij (stief)broers en -zusters. Een van hen was huisarts en had beslissende invloed op zijn uiteindelijke studiekeuze. In 1901, nadat Alec als vrijwiller uiteindelijk niet uitgezonden was naar de Boerenoorlog, overtuigde deze stiefbroer hem ervan dat hij een juist verworven legaat van 250 pond moest steken in de medische studie.[3,4] Na zijn artsexamen overwoog Alexander Fleming chirurg te worden, maar een toevallige vacature in het bacteriologische laboratorium van zijn opleidingsziekenhuis bracht hem op een andere weg.[2-4] Zijn opleider Almroth Wright was een gedreven onderzoeker van infectieziekten die vooral was geinteresseerd in immuniteit en gekeerd tegen vergiftiging van bacteriën.2,3,6 Fleming onderging echter ook de invloed van de successen van Ehrlich en de infectieziekten van de eerste wereldoorlog waren voor hem net zo'n grote impuls als voor Domagk om te zoeken naar therapieën (jarenlang leidde hij een militair-bacteriologisch veldlaboratorium in Boulogne).3,4 De desinfectantia die toen al ter beschikking stonden waren niet geschikt voor wondbehandeling, reden waarom hij geinteresseerd was in stoffen als Salvarsan. Hij was de eerste Britse onderzoeker die met dit anti-syfilismiddel werkte.3

De werkwijze van Fleming was nogal rommelig en zijn laboratorium leek meer een atelier.3,4 Hij bewaarde zijn agar-platen langer dan nodig was en hoopte altijd iets

interessants te vinden voordat hij van ze scheidde. In 1922 ontdekte hij dat zijn neusslijm bacteriën remde op de plaat en in bouillon. Ook tranen bleken deze antbacteriële werking te hebben. Zijn baas Wright bedacht de term 'lysozymen' voor substanties die remmend werkten, maar die men nog niet had geisoleerd.3,4 Fleming ging op zoek naar de antibacteriële werking van substanties uit planten maar ontdekte dat vooral het wit van eieren vol lysozymen zat. Hij injecteerde dit eiwit in konijnen en vond dat de bactericide eigenschappen van hun bloed sterk toenamen. Helaas bleken pathogene bacteriën nauwelijks gevoelig voor deze lysozymen.3,4

Het overbekende verhaal van de ontdekking van Fleming in september 1928 van schimmels die stafylokokken op zijn voedingsbodems doodden, wordt meestal verkeerd geinterpreteerd.3,4,8,9 De mythevorming heeft het beeld doen ontstaan van een hoogst verraste onderzoeker die eigenlijk met heel andere zaken bezig was en ineens iets waarnam dat later nuttig bleek, kortom dat er sprake was van serendipiteit. Maar de belangrijke waarneming geschiedde door een man die al jaren zijn platen afspeurde naar verrassingen en die al meer dan 20 jaar fervent zocht naar antibacteri‰le stoffen. Zelf is Fleming daar nooit geheimzinnig over geweest; hij schreef zijn bevinding toe aan systematisch speurwerk.4,5 Hij zag onmiddellijk het belang van de vondst in en fixeerde de plaat waarna hij hem steeds bewaard heeft; deze bevindt zich nu in het Brits Museum.

Verloren tijd

Het verschil met de vondst van de sulfonamiden die vier jaar later plaatsvond, is de grote financiële en facilitaire steun die I.G. Farben bood, terwijl Fleming geen interesse kon opwekken voor zijn schimmels en derhalve ook geen fondsen kon genereren.4 Maar ook met minder steun zouden een Ehrlich of een
Domagk vermoedelijk anders met de vondst zijn omgegaan dan Fleming. De Schot was een klassieke geleerde die niet handig alle mogelijkheden om de vinding nuttig te maken aanwendde. Dat betekende dat identificatie en verdere taxonomische onderzoekingen, opzuivering van de werkzame stof en vervaardiging ervan in voldoende hoeveelheid om een klinisch onderzoek te starten, niet volgens een duidelijk tijdspad en

door de juiste personen geschiedde. Laat staan dat er een perspectief was dat een grote productie van het middel ooit zou worden bewerkstelligd.

De wat slordig-artistieke en niet zo sociaal-intelligente wetenschapper verdient niettemin alle lof voor zijn vasthoudendheid; zonder hem was de penicillineproductie gedurende de tweede wereldoorlog later of in het geheel niet op gang gekomen. Bovendien was het werken met schimmels en hun producten wel even wat anders dan met de eenvoudige stofjes van de kleurstofindustrie. In feite was de tijd nog niet rijp voor opwerking, zuivering en massaproductie van stoffen uit het schimmelrijk.

Het liep al een beetje mis bij de determinatie van de schimmel.
Die werd gesteld op Penicillum rubrum, terwijl veel later de Amerikaanse mycoloog Thom er Penicillum notatum van maakte.2,4
Maar wat serendipiteit betreft: Fleming ging vele jaren door met het zoeken van schimmels die krachtiger penicilline leverden; het bleek echter dat zijn eerste isolaat het beste was.2 Het werd alleen overtroffen tijdens de speurtocht naar schimmels in de VS in W.O. II.8 Een schimmel op een meloen van de markt in de
buurt van het voornaamste researchinstituut op het gebied van penicilline bleek het krachtigste penicilline tot nu toe op te leveren.2,4

Fleming's assistent Craddock was de eerste patient die met penicilline behandeld werd; Fleming genas hem in januari 1929 van een sinusitis met vloeistof van schimmelcultures.3 Het was nu zaak om de werkzame stof te zuiveren; een reeks van onderzoekers werd ingeschakeld en een vermoeiende aaneenschakeling van mislukkingen over vele jaren ving aan.3,4 Fleming vond eenvoudig geen goede financiering en niet de juiste personen. Het pleit voor zijn terriërsmentaliteit dat hij het project nooit liet varen.4,5

In 1936 bleek hem tijdens het tweede Internationale Microbiologische Congres dat er aan Amerikaanse zijde groeiende aandacht was voor zijn vinding.3 En inmiddels bleek buiten zijn medeweten in Oxford aan penicilline gewerkt te worden door de

Australiër Florey en de Duitser Chain die als jood Duitsland ontvlucht was, en eerst van plan was geweest verder te emigreren.2 Dit team boog de neerslachtig makende keten van mislukte pogingen om in goede richting. In 1939 maakte Amerikaans geld ruim onderzoek mogelijk en in 1940 was penicilline in voldoende gezuiverde toestand beschikbaar voor dierproeven.3 Het bleek niet toxisch en een krachtig antibioticum dat bactericide is.10 Fleming las erover in de krant en toog naar Oxford. De onderzoekers daar schrokken hevig want ze verkeerden in de mening dat Fleming al gestorven was.3

De eerste kandidaat voor het preparaat was een Oxfordse politieman met een ernstige stafylokokkensepsis die ongevoelig bleek voor sulfonamiden.2,5 Op 21 februari 1941 kreeg hij penicilline intraveneus en herstelde binnen een paar dagen vrijwel geheel. Helaas was toen het beetje penicilline op en pati‰nt stierf alsnog.2,3,5 Inmiddels was aan Amerikaanse zijde door oorlogsdreiging veel steun ontstaan voor het op grote schaal produceren van het middel.

Maar geen verloren strijd

De 'concerted action' in de tweede wereldoorlog om te komen tot grootscheepse penicillinetherapie doet denken aan de ontwikkeling van de atoombom. Britse en Amerikaanse wetenschappers werkten zonder voorbehoud samen en slaagden erin
om vanaf '43 voldoende doses penicilline voor het leger te produceren.3,5 Vergelijkbaar is de waaier aan nieuwe anti-malariamiddelen die in verband met de oorlog in de Pacific ontwikkeld werd.11 De overwinning op de fascistische regimes is niet in de laatste plaats aan de microbiologen en de antimicrobi‰le therapie te danken.

De tweede wereldoorlog was nauwelijks afgelopen toen Fleming,
Florey en Chain de Nobelprijs voor geneeskunde deelden (1945).5,6 Zelden zal de toekenning van deze prijs zo terecht zijn geweest. Vooral Fleming werd een rondreizend geleerde die

overal de hoogste lof oogstte. Zijn eredoctoraten, lidmaatschappen etc. vullen een boekwerk. Hij overleed in 1955.2,5,6 Ondanks de inmiddels gebleken vele vormen van resistentie onder bacteriën, zijn de penicillines nog altijd antibiotica van het hoogste belang. Hun bactericide werking op delende bacteriën berust op verhindering van de wandopbouw.10 Intussen zijn er tientallen varianten op het penicilline-molecuul geconstrueerd.2,7,8,10

In de loop van 1998 is in dit tijdschrift een uitgebreide informatie-uitwisseling tot stand gekomen over introductie en eerste gebruik van penicilline in Nederland. Het is nog te vroeg hier uitsluitsel over te geven, maar het vermoeden lijkt gewettigd dat dit 'multi-focaal' geschied is, gedurende 1944 en 1945, met voornamelijk Amerikaanse preparaten.

Met dank aan prof dr J Huisman voor zijn commentaar.

Literatuur

Holmstedt B, Liljestrand G. Readings in pharmacology. New York: Raven Press, 1981.

Krantz JC. Historical medical classics involving new drugs. Baltimore: Williams & Wilkins, 1974.

Baldry PE. The battle against bacteria. Cambridge: Cambridge University Press, 1965.

Macfarlane G. Alexander Fleming. The man and the myth. Oxford: Oxford University Press, 1985.

Maurois A. La vie de Sir Alexander Fleming. Paris: Hachette, 1959.

Kluyver AJ. Levensbericht van Sir Alexander Fleming. Amsterdam: KNAW, 1955 (Jaarboek 1954-1955).

Archer GL, Polk RE. Treatment and prophylaxis of bacterial infections. In: Harrison's principles of internal medicine (AS Fauci et al, ed) New York, McGraw Hill, 1998.

Issekutz B. Die Geschichte der Arzneimittelforschung. Budapest: Akad,miai Kiad¢, 1971.

Brock ThD. Milestones in microbiology. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-hall, 1961.

Laurence DR. Clinical pharmacology. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1975.

Kager P. Malariatherapie; vallen en opstaan, hoe lang nog? Ned Tijdschr Geneeskd 1997; 141: 1764-6.

Samenvatting

Het antibiotische tijdperk waarin bacteriële infecties adekwaat bestreden kunnen worden, ving aan met de introductie van sulfonamiden in 1935 en penicillinen in de loop van de tweede wereldoorlog. Hoewel nog steeds gesproken wordt van 'ontdekkingen' is er sprake geweest van systematisch speuren naar stoffen met antibacteriële eigenschappen die de gastheer weinig of niet schaden. Weliswaar was er bij de ontdekking van penicilline sprake van serendipiteit, maar de bacteriedodende schimmels die Fleming aantrof waren gevallen op een vruchtbare voedingsbodem: een laboratorium waar sinds jaar en dag werd gezocht naar antibacteriële middelen.

Abstract

The antibiotic era brought adequate therapies for bacterial infections and began with the introduction of sulphonamides in 1935 and penicillins in the course of World War II. Notwithstanding the usual description as 'discoveries', they were the fruits of systematic investigations for chemicals with antibacterial properties and little or no toxicity for the host. Despite the role of serendipity in the discovery of penicillin, the bactericidal moulds that Fleming observed had fallen on fertile earth: a laboratory where the search for antibacterial drugs had been going on for years.

Figuur 1. Gerhard Domagk (1895-1964) (bron: Hoffmann-La Roche,
Basel, 1939)

Figuur 2. Links Prontosil, rechts sulfanilamide (bron: referentie 9)

Figuur 3. Alexander Fleming (1881-1955) (bron: referentie 5)