

cado por canales circulatorios o atravesado por los capilares. Aquí de la figura pintoresca del rebaño de ovejas que abreva en las márgenes de un río. Toda alteración química del plasma que consista en la presencia de principios con tropismo vegetativo, impregna el sistema y lo excita, lo deprime, lo degenera o funde, creando un desequilibrio consiguiente a la ausencia de un sector esencial de la vida somática.

Las consecuencias son locales o generales; las vegetatonías entorpecen funciones motrices limitadas o locales o constituyen condiciones neurovegetativas generales que cambian radicalmente la constitución.

Con estas nociones respaldadas por la gran autoridad de Roussy y Mosinger, no nos parece inexplicable ni misterioso o esencial este modo de constituirse la patogenia de síndromes tan distintos como los que hemos escogido para justificar nuestra doctrina, de que habitualmente hay venenos dispépticos que deciden de la fisiología animal en todo el curso de la vida, desde la época embrionaria hasta las edades más avanzadas. Al contrario, creemos que ningún otro sistema de explicación sea tan satisfactorio como el que he aceptado con tan fuerte convicción para respaldo de las ideas que a mí propio riesgo he venido sosteniendo.

El papel de la química en los progresos de la bacteriología en los últimos 20 años, *

Por el Dr. JOSE ZOZAYA

Agradezco en todo lo que vale la alta distinción que me hace esta H. Academia al admitirme entre sus miembros, ocupando un sillón de Microbiología, distinción a la que corresponderé poniendo todo lo que esté de mi parte para servir con mi humilde contingente, de la mejor manera posible, en todo aquello que me sea encomendado.

Quizás algunos de ustedes estén extrañados de que mi trabajo de presentación no sea la exposición de un problema expe-

* Trabajo de ingreso, como académico de número, leído en la sesión del 20 de abril de 1941.

rimental; pero con toda sinceridad creo que es de suma importancia hacer un análisis del papel que ha tenido la química en los progresos de la moderna bacteriología. En este análisis me concretaré tan sólo a los últimos veinte años, por ser éstos los que he pasado dedicado a mi especialidad y que, por lo tanto, puedo juzgar según mi propia experiencia.

Como la mayoría de los aquí presentes, estudié y aprendí la bacteriología según los métodos referidos en los libros de texto, métodos en los cuales se daba capital importancia a la clasificación bacteriológica basada en coloración, morfología y aspecto cultural, que venían a ser lo que bien pudiera llamarse una clave para la identificación de los gérmenes. Hecho este primer diagnóstico, se pasaba en seguida al estudio experimental en animales, y así surgieron los conocidos postulados de Koch. Más tarde, la observación clínica y el cultivo cuidadoso de los gérmenes patógenos justificaron el descontento de los estudiantes de bacteriología, apareciendo pronto los primeros investigadores del comportamiento bioquímico de los organismos según las diferentes técnicas para su cultivo, llegándose por fin a la conclusión de que de éstas dependía en gran parte la forma adoptada por un germen, pues cuando las condiciones eran adversas, o simplemente diferentes, daban como resultado formas que podrían llamarse atípicas, causa esta de la confusión y errores que entonces reinaban. Y así, poco a poco, fué perdiendo su autoridad el concepto morfológico, en tanto la adquirían los nuevos descubrimientos a que en seguida me refiero.

Arkwright, en 1921, fué el primero que cuidadosamente estudió y describió los cambios culturales sufridos por gérmenes del grupo tífico-paratífico-disentéricos en los diferentes medios sólidos y líquidos y entre éstos y aquéllos, llamando "Smooth" o "S" a las colonias lisas y "Rough" o "R" a las rugosas. Estos cambios resultaron ser transmisibles, pero a su vez, con métodos especiales, reversibles, y tal descubrimiento sirvió de base y aplicación para aclarar los diferentes grados de virulencia que presentaba una misma cepa en idénticas condiciones, hecho hasta entonces inexplicable. Se supo también que esos cambios se podían provocar fácilmente, sometiendo los gérmenes a determinadas

condiciones adversas, añadiendo substancias como el cloruro de sodio en el medio de cultivo, o alternando el pH.

Conocido ese polimorfismo bacteriano, de origen meramente cultural, se ocuparon de su estudio muchos investigadores, entre los cuales Mellon, por sus trabajos, es el más importante, logrando hacer producir esporas a gérmenes no esporulados, transformando los cocos en bacilos y viceversa, dando de esta manera el primer golpe al dogmatismo de la morfología bacteriana.

Entre las contribuciones más importantes en la prevención de las enfermedades están, sin duda, los descubrimientos de Ramon acerca de la anatoxina diftérica, después de los descubrimientos de Glenny, Pope y Waddington acerca del valor inmunizante de una toxina modificada, el cual estaba en relación con la dosis flocculante (Lf), y, por último, el descubrimiento de Glenny del toxoide diftérico precipitado con alumbre, que obtuvo así un antígeno eficaz para la inmunización contra la difteria. Este conjunto de trabajos ha modificado por completo la morbilidad de la difteria en todos los países en donde se ha usado y pronto podremos ver en México, por la inmunización en grande escala que se está llevando a cabo, notablemente modificada nuestra cifra de morbilidad en esta enfermedad.

Con estos mismos métodos, y con magníficos resultados, se está estudiando la inmunización activa en contra del tétanos, de tal manera que la mayoría de los ejércitos europeos, en la actual contienda, inmunizan a sus soldados en esta forma.

Un descubrimiento importante en el conocimiento de la química de las bacterias, fué el que en 1917 Dochez y Avery hicieron al reconocer en la orina y en la sangre de los enfermos de neumonía, una sustancia soluble, específica del neumococo. Poco después estos mismos autores la encontraban en los cultivos líquidos del germen. Y más cuidadosamente estudiada por Avery y Heidelberger, se identificó como un polisacárido específico del neumococo. Los estudios de estos autores, que profundizaron y afinaron en sus técnicas hasta llegarse a aislar en estado puro esta substancia y la de otros tipos de neumococo, estableciéndose así un nuevo dato y revelando que la reacción específica serológica, es debida a estos carbohidratos, los que obran como antígenos per se u orientando el estímulo antigénico de las proteínas conjuga-

das, tanto como su exquisita acción como haptenos en presencia de cuerpos homólogos inmunes. Los mismos investigadores, con la cooperación de Goebel, aislaron del neumococo una nucleoproteína que resultó ser especie-específica, y no tipo-específica como los carbohidratos. Las reacciones cruzadas que se observan con el bacilo de Friendlander se pudieron explicar con la identificación del polisacárido de este germen, que contiene parte de su molécula semejante a la del neumococo. Esta substancia específica pudo aislarse en la cápsula bacteriana.

A este respecto quiero recordar que tuve la fortuna de trabajar con Heidelberger en la época en que se estaban logrando tales descubrimientos, los que me estimularon para contribuir con más de veinte trabajos sobre estudios de polisacárido de neumococo y con otros tantos sobre los polisacáridos de diferentes gérmenes. Alentado por estos estudios presenté una nueva teoría sobre "antígenos", la cual resultó ser semejante a la de Wilsaetter, quien hablando conmigo me explicó la suya sobre la acción de las enzimas, relacionada con el problema que observamos en los polisacáridos, presentándose en la naturaleza el hecho de que la celdilla bacteriana esté formada por un centro proteico en donde se absorben los carbohidratos específicos que dan al organismo su virulencia, especificidad, etc.; pero de tal manera, que el núcleo no tiene que ser necesariamente un proteico, sino que bien podía estar reemplazado por un coloide, como el mismo Wilsaetter lo había comprobado en las enzimas.

Esta teoría, aunque bastante revolucionaria, fué comprobada por algunos investigadores serios, y no obstante haber quedado bajo la censura de mi amigo Landsteiner, él mismo, poco después, ha dado a conocer experimentos que mucho lo sostienen en principio.

Los estudios que siguieron a estos descubrimientos, y que también han tenido una importancia enorme, fueron los de Goebel, Avery y Tillet, quienes conjugaron p-amino-fenol-B-glucósido y para amino-fenol-B-galactósido con globulina de suero de caballo, haciendo lo mismo con la albúmina de huevo, demostrándose por estudios inmunológicos posteriores que cuando dos derivados de carbohidratos diferentes se unían a la misma proteína, los nuevos antígenos formados presentaban especificidad inmunológica

distinta, y que cuando el mismo radical de carbohidrato se conjugaba con proteínas química y serológicamente diferentes, las dos proteínas de azúcares así formadas adquirirían una especificidad serológica común, demostrando que dos isómeros, glucosa y galactosa, en donde varía solamente la configuración de un átomo de hidrógeno y un oxidrilo, esto es suficiente para orientar la especificidad de la misma proteína.

Goebel y Avery, por fin, terminaron estos estudios haciendo el importante descubrimiento de un éter del polisacárido del neumococo del tipo III con para-nitro-monobenzil y acoplarlo con la globulina de suero. Este complejo artificial de un carbohidrato específico con una proteína, podía inmunizar conejos contra el neumococo virulento del tipo III, y el suero de los conejos así inmunizados contenía anticuerpos tipo-específicos que precipitaban con el polisacárido natural del tipo III, aglutinaban el neumococo del mismo tipo y específicamente protegían ratones contra una infección neumocócica de ese tipo.

Los trabajos hechos por mí sobre el poder inmunizante de los polisacáridos "per se" fueron los primeros en demostrar que se podía proteger un ratón con dosis pequeñísimas del polisacárido contra miles de dosis mortales. Estos estudios fueron comprobados más tarde por Felton, Wadsworth, Brown y otros.

El neumococo normal contiene en su cápsula un polisacárido que sirve para distinguirlo de otros miembros de su especie. Estos carbohidratos complejos varían en su contenido de nitrógeno, fósforo y posiblemente de otros elementõs. El carbón, hidrógeno y oxígeno se combinan con porcentos variables de radicales de carboxyl-acetil o con algún otro radical, y la presencia y proporción de estos grupos químicamente combinados con los diferentes azúcares, que sirven para identificar el tipo específico serológico a que pertenece el neumococo.

El polisacárido capsular varía en sus afinidades ácidas y básicas, tanto como en su relación al plano de la luz polarizada. La proporción de estos carbohidratos fluctúa en los diferentes tipos, e hidrolizando las sustancias se obtienen cantidades diferentes de diversos productos de desintegración, tales como glucosaminas, ácidos y azúcares simples. Con la proteína común y los carbohidratos somáticos como núcleo, será factible, tan pronto como otros

polisacáridos se hayan aislado, reconstruir básicamente los 32 tipos de neumococos, y posiblemente otros que aún no se han descubierto.

Tal conocimiento sistematizado de la composición química de un organismo sirvió de ejemplo para el estudio de muchos otros, aclarándose la mecánica de sus relaciones inmunológicas.

En conexión con los progresos que se han hecho en el aislamiento de las sustancias químicas componentes de diferentes bacterias, tenemos los polisacáridos obtenidos del bacilo de la tuberculosis, por Massuci, Heidelberg y Johnson, Coghill y Renfrew, quienes aislaron proteínas de varios tipos, como ácido nucléico, y por último las ceras, fosfolipinas y un complejo de ácidos grasos por Anderson, lo que ha abierto un nuevo campo a la investigación en manos de la Doctora Sabin y sus colaboradores en el Instituto de Rockefeller, quienes con su experiencia citológica han podido estudiar los efectos de cada una de estas sustancias en los animales. El conjunto de reacciones explican claramente la patología del tubérculo, unidad patológica de la tuberculosis.

La reacción pura de las fosfolipinas se caracteriza especialmente por las celdillas epitelioides. Las ceras del bacilo tuberculoso son intensamente ácido-resistentes y de un peso molecular elevado. La reacción celular de todas estas sustancias es semejante: son excelentes estimulantes para los monocitos, que en vez de transformarse en celdillas epitelioides, se unen para formar celdillas gigantes del tipo de un cuerpo extraño. En estas celdillas gigantes las ceras pierden su propiedad de ácido-resistentes y finalmente descomponen el material en finas partículas, en las que el citoplasma ya no está vacuolado. Los mismos cambios se observan en conejos inoculados con cepas virulentas del bacilo tuberculoso.

Los complejos de ácidos grasos, solubles en acetona, producen las reacciones celulares más complejas que se han estudiado. Este material estimula la producción de monocitos, fibroblastos y macrófagos, causa también la formación de celdillas epitelioides y celdillas gigantes, ocasiona hemorragias y estimula la formación de bandas de tejido fibroso. La proteína insoluble produce un estímulo a la formación de monocitos, y ocasionalmente celdillas epitelioides y gigantes. El polisacárido es marcadamen-

te quimiotáctico a los neutrófilos, dañándolos en tal forma, que son fagocitados por los clasmatocitos o macrófagos.

Todas estas reacciones se encuentran como respuesta a la infección de cepas virulentas. Pero además estas cepas producen necrosis, la caseificación, que se diferencia de la producida por las fosfolipinas, en que ésta causa la muerte de todos los tejidos y provoca una degeneración del esqueleto fibroso del tubérculo. Hace ya mucho tiempo que se sabe que las reacciones celulares de la tuberculosis se pueden producir tanto por bacilos muertos como por vivos, y que también son causadas por otros organismos ácido-resistentes no virulentos; pero las lesiones producidas por organismos avirulentos retroceden, mientras que las producidas por organismos virulentos al huésped progresan.

Las cepas muy virulentas para un huésped susceptible demuestran no sólo una reacción celular compleja y progresiva, sino también una necrosis tóxica de los tejidos del cuerpo. Las reacciones celulares probablemente se deban a los productos del bacilo, porque todas las que se encuentran en la enfermedad han podido ser reproducidas por fracciones químicas aisladas del bacilo; pero solamente los organismos virulentos producen esa necrosis tóxica en los tejidos.

Tales estudios demuestran que entre las reacciones celulares más importantes está la de los monocitos. Esta celdilla tiene un papel importante en la fagocitosis del bacilo tuberculoso, aunque estos gérmenes también sean atacados por los neutrófilos. En las lesiones producidas por cepas avirulentas o atenuadas, es probable que el monocito mate al bacilo, en tanto que en las cepas virulentas sucede lo contrario. Estos brillantes estudios ponen en evidencia el adelanto alcanzado en el método científico en los estudios histopatológicos de una enfermedad tan compleja como la tuberculosis, y abren las puertas a otras aclaraciones de similar importancia en diferentes enfermedades.

Como otro ejemplo de un estudio sistematizado, podemos recordar los trabajos de Kaunffman y White en las salmonelas, pues aun sin haber aislado las substancias químicas responsables de las diferencias inmunológicas, sí pudieron, con métodos pura-

mente serológicos, establecer los distintos tipos y las variaciones entre un tipo y otro.

Tal método se está aplicando al estudio de otros grupos de gérmenes, con la mira de lograr de una manera científica, la diferenciación de los diversos tipos.

Siempre fué uno de mis objetivos de experimentación el poder usar los polisacáridos como antígenos para la inmunización profiláctica, y actualmente veo con gran satisfacción los experimentos de vacunación profiláctica en contra de la neumonía, usando como antígeno los polisacáridos específicos del neumococo. El ejército americano tiene a este respecto planeado un experimento en gran escala.

Un capítulo de gran interés práctico, y aun filosófico, es el referente al estudio de las enzimas bacterianas, que abre así un gran horizonte a la explicación de sus reacciones bioquímicas.

Las escuelas de Stepheson y Quastel en Cambridge, Inglaterra, y de Klyver en Holanda han contribuído con estudios interesantísimos demostrando que hay bacterias como la *Escherichia coli* en la que Quastel observó más de 51 reacciones enzimáticas. No se puede menos de pensar en las innumerables posibilidades de reacción que pueda haber en las sustancias de los medios de cultivo o en el campo de acción de los varios tejidos.

Pero se presenta otro problema más interesante aún, y es el del concepto teleológico de las bacterias. Los hechos demuestran que no existe la idea de "finalidad" en las bacterias. No obstante, algunos gérmenes facultativos anaerobios tienen enzimas por medio de las cuales pueden utilizar los nitratos para oxidación anaeróbica y así obtener energía para su desarrollo en ausencia del oxígeno.

Otro ejemplo es el *Azotobacter*, organismo que posee el poder oxidante más alto encontrado en una celdilla o tejido. El teleólogo indudablemente buscaría una propiedad fisiológica extraordinaria a la que este fenómeno estuviera casualmente ligado. Pues bien, cuando este germen lleva la vida convencional de un anaerobio en amoníaco o nitrato, no hay nada extraordinario en la velocidad de su desarrollo que explique a su vez la velocidad anormal de la oxidación. Preséntase la posibilidad de que su alta

capacidad oxidante pueda estar asociada con otra peculiaridad química, esto es, su poder de fijar el nitrógeno atmosférico.

Sin embargo, los experimentos demuestran que la velocidad máxima para fijar el nitrógeno no se presenta en las condiciones de máxima respiración, con un diez a un quince por ciento de oxígeno, sino en una atmósfera con un cuatro a cinco por ciento, en cuyo caso la respiración ya no es máxima, siendo entonces la "eficiencia de fijación" o sea la velocidad de la fijación del nitrógeno con relación al oxígeno consumido, mucho mayor.

Por otra parte, la presencia de hidrogenasa también presenta dificultades para los creyentes en la teleología bacteriana; existe un grupo enorme de organismos que la posee, pero que además tienen un sinnúmero de enzimas que oxidan otras muchas sustancias, sin tener la necesidad, por lo tanto, de oxidar las pequeñas cantidades de hidrógeno que algunas veces se encuentra en su derredor.

Un organismo, encontrado por Dooren de Jong, en la tierra, es capaz de oxidar 78 diferentes sustancias orgánicas, pudiendo vivir en cualquiera de ellas. Pero no es fácil explicar según bases teleológicas la habilidad que presenta para oxidar el ácido alfa-B-bromopropiónico y el ácido bromo-succínico o de benzilamina.

La misma diferencia enorme que existe entre las enzimas bacterianas y las tisulares se presenta como variabilidad en estas últimas. Está bien reconocido que las bacterias patógenas recientemente aisladas de los tejidos de su víctima, son con frecuencia, cuando se reinoculan en un nuevo huésped, más patógenas que la misma cepa cultivada en el laboratorio por algún tiempo en medio artificial. Y claramente está demostrado que las bacterias que se conservan en medios artificiales, contienen un sistema de enzimas diferente al que se obtiene de los tejidos vivos. Aún más: se ha comprobado que las condiciones del medio en donde se desarrolla una bacteria influyen considerablemente sobre la actividad enzimática de la misma, existiendo dos tipos de enzimas, las adaptativas y las constitutivas, variando la cantidad de unas u otras según las condiciones de desarrollo, entre las que está incluida la presencia o ausencia del sustrato, de otras

substancias y su grado de aireación. Así, el poder glicolítico de la *Escherichia coli* con respecto a la glucosa, varía entre 50 y 1000, según sean las condiciones de cultivo.

Otras enzimas importantes para la vida de las bacterias son las relacionadas con la respiración celular, las catalasas. La descomposición del peróxido de hidrógeno por las plantas y los tejidos animales se debe a la catalasa, cuya acción se traduce en la formación de agua y oxígeno, el cual se libera en forma molecular inactiva. En el metabolismo de las bacterias tiene esta enzima un papel muy importante, pues su falta altera la virulencia y las acciones bioquímicas de los organismos.

Son muchos los estudios recientes que se han hecho sobre esto; mas el tiempo no permite entrar en pormenores, y aquí tan sólo los menciono, ya que más adelante debo citarlos de nuevo y detenidamente en relación con las modernas teorías de quimioterapia.

Después de los estudios ya relatados sobre la composición química de los neumococos y de otros muchos gérmenes, se despertó un gran interés en la preparación de mejores sueros terapéuticos con la nueva orientación que habían dado los estudios de los polisacáridos. Esto aconteció especialmente con el suero antineumócico, en donde las investigaciones de Felton proporcionaron un método práctico para purificar la atracción de las proteínas del suero que contenían los anticuerpos específicos. Sabiendo que el polisacárido específico se une a su anticuerpo, el estudio de la fracción que contenía este anticuerpo fué fácil de determinar.

Heidelberger y Kendall, mis ayudantes y yo, fuimos los primeros en establecer un paralelismo entre la prueba de precipitación y la potencia del suero, diseñando un método práctico para esta determinación, el cual fué aceptado por muchos laboratorios de los Estados Unidos y de Europa como procedimiento de rutina en la standarización del suero antineumocócico. Aquí en México, Varela hizo un estudio comparativo con el de titulación en el ratón y encontró grandes ventajas en su uso. El método de Heidelberger se basaba esencialmente en lo mismo, solamente que

determinaba la cantidad de proteína (nitrógeno) en el precipitado del lavado de la reacción.

Estos estudios se fueron perfeccionando y diferentes investigadores aumentaron nuestros conocimientos sobre la naturaleza de los anticuerpos. Heidelberger, trabajando en el laboratorio de Svedberg en Upsala, estudió la proteína asociada con el anticuerpo específico del neumococo, usando de la supercentrifuga y el aparato de cataforesis para la determinación del peso molecular y la composición química de esta sustancia, encontrando que era una globulina con un peso molecular de aproximadamente... 70,000.

Con métodos tan precisos, por vez primera tuvimos la oportunidad de estudiar un anticuerpo en su estado puro, pues antes sólo existían acerca de ellos un simúmero de teorías, pocas de las cuales valen la pena de ser desarrolladas, siendo las ideas de Ehrlich las que por mucho tiempo prevalecieron como la única explicación dada en escuelas y libros de texto.

El resultado práctico de todo esto fué la purificación de los sueros, disminuyendo de una manera notable la proporción de proteínas no específicas.

En Inglaterra Pope y sus colaboradores, deseando purificar más aún los sueros antitóxicos, descubrieron que la fibrinolisis obra sobre la pseudoglobulina que contiene esencialmente los anticuerpos antitóxicos, disgregándola en componentes proteicos de diferentes propiedades físicas y químicas. Otras enzimas proteolíticas poseen las mismas propiedades y el único cuidado que hay que tener, es evitar que se hidrolíce o se digiera la fracción específica, lo que se logra con el control del pH, de la temperatura, etc.

Así se ha podido lograr una antitoxina diftérica que puede precipitarse completamente con toxina diftérica. Este método, ya perfeccionado, se usa en los laboratorios comerciales para la purificación de los sueros antitóxicos.

Los progresos de los procedimientos físico-químicos nos han permitido penetrar más en los fenómenos de inmunidad. Me refiero especialmente a los estudios que Rideal y Schulmann, con quienes tuve el honor de trabajar, están llevando a cabo en Cambridge. Haciendo uso de una técnica desarrollada por ellos para

el estudio de las capas moleculares en la superficie de los líquidos, han podido conocerse más a fondo fenómenos como los de aglutinación, los sistemas hemolíticos y las reacciones entre antígeno y anticuerpo.

Estos mismos progresos en físico-química han contribuido al esclarecimiento del problema que representaban los virus filtrables, en cuyo terreno hemos podido apreciar quizás el mayor progreso logrado en los últimos 20 años. El método de estudio está definido y los resultados son alentadores. Entre los trabajos de Stanley, quien en 1933 aisló de plantas enfermas una sustancia cristalina con las propiedades del virus del mosaico del tabaco, es de citarse el descubrimiento de que de este material en su forma cristalina, se obtuvo un veinte por ciento de nitrógeno y un uno por ciento de cenizas, siendo la infecciosidad y composición química de esta sustancia cristalina, constante aun después de varias recristalizaciones. La dosis infecciosa de estos cristales, es de un centímetro cúbico de una dilución al uno por mil millones. La enfermedad producida por esta dilución y por otras más fuertes, es típica del mosaico del tabaco, y el suero de animales inoculados con este virus precipita cuando se mezcla con una dilución al uno por cien mil. El suero de animales inyectados con los cristales presenta la precipitación con una solución de los cristales mismos, así como con el jugo de plantas infectadas, no siendo activo en plantas sanas. Esta proteína se obtuvo por precipitación con sulfato de amonio y es de naturaleza globulínica. Stanley cree que su proteína es pura, o bien que sea una solución sólida de proteínas.

Hasta hoy no se ha demostrado que exista una mezcla con una parte activa y otra inerte, y se considera que el virus del mosaico del tabaco pueda ser asimilado a una proteína autocatalítica que requiere la presencia de celdillas vivas para su multiplicación. Con Stanley, Loring y Wyckoff han continuado estudiando las propiedades químicas y biológicas de esta proteína.

Siguiendo los lineamientos de esta técnica se ha preparado ya, en forma pura, varios otros virus con una variación enorme en lo que a su tamaño molecular se refiere, encontrándose en un extremo virus como el de la poliomiелitis y el mosaico de la papa,

que son más pequeños que la molécula de albúmina de huevo, y en el otro los virus de la vacuna y la psitacosis, mayores que algunos microbios.

La cantidad pura obtenida de estos virus ha sido tan pequeña, que ha imposibilitado los estudios químicos al respecto. Afortunadamente, del virus del mosaico del tabaco se han obtenido cantidades suficientes para hacer un estudio detallado, que dé un mejor conocimiento de su probable naturaleza.

La proteína de este virus es homogénea, lo cual es de importancia, pues sugiere su pureza, pudiéndose concluir que se trata del mismo virus. Las pruebas biológicas y serológicas todas demuestran esa homogeneidad, de donde también se puede concluir que el virus es una molécula con todas sus propiedades y, además, con la actividad del virus. Esta propiedad es la que puede considerarse como el punto de partida en el crecimiento del protoplasma. A la introducción de varias moléculas o de una sola del virus del mosaico del tabaco en una celdilla de un huésped susceptible, se sigue la producción dentro de la célula, en muy poco tiempo, de millones de moléculas de la misma clase de la que se introdujo. La producción no se limita a la celdilla inoculada, sino que se comunica a las células siguientes, y es así como no sólo una celdilla, sino millones de ellas, participan en la formación de las nuevas moléculas proteicas del virus, por lo que podemos deducir que la molécula del virus se reproduce o crece.

Sin embargo, cuando se retiene al virus en un tubo o en un medio sin celdillas vivas, no se reproduce. Para que esto ocurra, es necesario introducirlo en celdillas vivas de un huésped susceptible. Mas se presenta otro fenómeno, y es que al producirse millones de moléculas, existe la tendencia a formar moléculas ligeramente diferentes a las inyectadas. La reproducción de estas moléculas diferentes, forma lo que se llama una nueva cepa, y todo el fenómeno puede calificarse de mutación.

Esto se ha comprobado por los síntomas que se presentan y por ser posible aislar estas nuevas cepas. Jensen aisló de una cepa pura del virus del mosaico del tabaco más de 50 cepas diferentes. Puede argüirse que estas nuevas cepas estaban contaminando a la original, pero toda la evidencia que hasta hoy se posee es contraria a esta creencia.

La propiedad de multiplicarse y de cambiar de forma hasta ahora no se había observado en moléculas ordinarias.

Hasta aquí son los hechos experimentales.

Queda abierto el problema para especulaciones filosóficas; mas por falta de tiempo y para evitar divagaciones de mi tema, debo abstenerme de tan agradable pasatiempo.

De los estudios más interesantes hechos sobre virus, debo mencionar los llevados a cabo en el Instituto Rockefeller sobre la influenza, estudios que revelan la enormidad del problema, pues hasta la fecha se han aislado más de 150 diferentes cepas, presentándose la probabilidad de obtener una vacuna, siendo muy alentador el descubrimiento de una cepa que posee amplia antigenicidad, lo que quizás pueda en parte subsanar las dificultades que se han presentado, ya que hasta ahora la inmunidad lograda dura muy poco tiempo y es relativamente leve.

Más éxito se ha logrado en la vacuna contra la fiebre amarilla. El uso del embrión de pollo como medio de cultivo, ha solucionado el cultivo de los virus.

A este respecto solamente mencionaré el cultivo de la rickettsia en embrión de pollo para uso de vacuna, como lo ha hecho Cox en el caso de la fiebre manchada de las Montañas Rocallosas.

Los trabajos de Castañeda en nuestro medio, sugieren un método práctico y económico para la producción de vacuna contra el tifo por medio de inoculaciones de rickettsias en el pulmón.

En general, el problema de los virus está solamente empezado; creo que el futuro guarda muchos secretos sobre enfermedades que aún no tenemos ni idea que existan.

Mas con todo, creo que podemos tener fe en que estamos preparados para abordar su estudio y descubrir sus secretos, ya que en esta rama de la bacteriología ha habido grandes adelantos, y es en mi humilde juicio, uno de los campos más fértiles para los bacteriólogos jóvenes que deseen emprender nuevas investigaciones, pues es éste en México un problema virgen.

Ya por último mencionaré la sulfanilamida y sus derivados, que a mi parecer son la contribución más importante a la medicina, especialmente en lo que se refiere al tratamiento de muchas enfermedades infecciosas. Los resultados que en unos cuan-

tos años se han logrado son enormes, y la bibliografía sobre ellos llena ya libros enteros, puesto que en todas partes del mundo se está utilizando. Tal adelanto nos interesa muy especialmente a los bacteriólogos e inmunólogos por muchas razones: porque han podido ayudar a combatir las enfermedades en las que la inmunología había fracasado prácticamente, y porque los resultados de este nuevo tratamiento lo califican de más eficaz, económico y eficiente.

Tales nuevos medicamentos han podido utilizarse con acierto, debido a los estudios experimentales en animales, que se han llevado a cabo en diferentes laboratorios, para establecer de antemano su eficacia, su excreción, su secreción, su absorción, su toxicidad aguda y crónica.

Mas existen todavía un sinnúmero de problemas que nos toca a nosotros, los bacteriólogos e inmunólogos, en compañía de los químicos y farmacólogos, aclarar. Es de urgencia conocer el problema de su acción, envuelto aún en hipótesis, lo que implica experimentación en diversas especies animales, estudios in vitro, investigaciones sobre la acción enzimática de las bacterias, pues no hay que olvidar que una de las teorías de acción más atractiva es la de Mellon y sus colaboradores, quienes piensan que la sulfanilamida tiene un poder anticatalasa, el cual en parte afecta el metabolismo normal de la bacteria, lográndose con este método disminuir su agresividad y virulencia, y es así cómo las fuerzas naturales exaltadas del organismo puedan defenderse más eficazmente contra la infección.

Existe todavía mucho por conocer sobre su dosificación en el hombre, variando mucho las opiniones a este respecto; esto es, necesitamos saber a qué concentración debe llegarse en la sangre para que el efecto óptimo de la droga pueda lograrse. Se desconoce bastante de su excreción y del problema de su acetilación, lo que es de máxima importancia en un individuo para conocer qué cantidad de la droga pasa a ese estado de acetilación en el cual no tiene ninguna actividad terapéutica, y sí conserva mucho de su toxicidad.

Muchas de las circunstancias accidentales que pueden tener efecto sobre la eficacia de la droga faltan por estudiarse, pues constantemente vemos comunicaciones sobre el efecto de la die-

ta, especialmente de proteicos, y algunas vitaminas, etc. Existen infinidad de problemas atractivos que son de resolución imperativa, en vista de lo cual he establecido en el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales un laboratorio para la investigación de estos problemas tanto en animales como en seres humanos.

La especialización en esta clase de estudios es indispensable, no sólo para resolver los problemas actuales de las drogas hasta hoy descubiertas, sino también para establecer un método por medio del cual las muchas drogas que se están descubriendo, o que se descubran, sean estudiadas, ya que es necesario seguir el rígido método de la Ciencia, de la experimentación, antes de exponer al hombre a los dudosos efectos de los nuevos medicamentos. Hay que saber usar estas drogas maravillosas para que los pacientes obtengan el maximum de ventajas y el minimum de contratiempos, evitando hasta donde sea posible los trastornos que ocasiona su uso indebido.

La situación mundial, y en especial la de Europa, pone mucha de la responsabilidad de estos estudios en los investigadores de este continente, responsabilidad que bien podemos aceptar como un privilegio. Tengo verdadera esperanza en que nosotros, en México, podamos contribuir en esta labor, y que tanto los clínicos, como los químicos, los bacteriólogos e inmunólogos, nos juntemos para que de común acuerdo podamos estudiar en debida forma las nuevas drogas que actualmente tienen tan marcado efecto en la mortalidad de muchas enfermedades, tales como las neumococias, estreptococias y meningococias, donde la morbilidad se ha llevado al mínimo, en tanto que en otras enfermedades si no mortales, sí de muy lenta curación, se ha aliviado o cortado el largo período de convalecencia.

La moderna quimioterapia es la resurrección de aquella esperanza que Ehrlich tuvo para combatir las enfermedades infecciosas.

Mas no porque estemos en la era de los grandes descubrimientos y de los entusiasmos de la quimioterapia, debemos dejar de pensar que los bacteriólogos e inmunólogos han terminado su misión; sino que ahora más que nunca tienen el grande y muy importante problema de encontrar métodos profilácticos eficaces

y sencillos para evitar las enfermedades que atacan al hombre, sin olvidar que nunca se descubrirá ningún método terapéutico que sea superior al de prevención. Para poder adelantar por tan difíciles caminos, necesitamos más que nada hombres que tengan una tradición de entusiasmo, pero hombres tenaces que se acerquen al ideal de integridad que describió Juan Milton como sigue:

“Estable, incorruptible, sereno,
Guardó su lealtad, su amor y entusiasmo;
Y ni número ni ejemplo pudieron
Apartarle de la verdad;
Ni cambiar su mente constante”.

Comentario al trabajo del Dr. José Zozaya *

Por el Dr. GERARDO VARELA

Tenemos el honor de recibir al Dr. Zozaya como miembro de la Sección de Microbiología de esta Academia, y es para mí especialmente satisfactorio cumplir el requisito reglamentario de darle la bienvenida y referir, aunque sea brevemente, su acción científica, ya que he tenido el privilegio de colaborar con él durante el tiempo que ha trabajado en este país. *

El Dr. Zozaya, al ingresar, nos presenta un resumen de los progresos de la bacteriología en los últimos 20 años. Su madurez científica le permite dirigir esa mirada retrospectiva, cosa que sólo es dable hacer a quienes, como él, han tenido una actuación destacada en dicha ciencia. Hace una especie de alto en su trabajo y escribe acerca de los resultados de sus experiencias, descurriendo deliberadamente las más espectaculares y refiriéndose sólo a las que juzga fundamentales.

El Dr. Zozaya se dedica y se ha dedicado siempre a trabajos experimentales; pero en esta ocasión sin duda ha considerado que la oportunidad es lo suficientemente propicia y solemne y,

* Leído en la sesión del 23 de abril de 1941.

abandonando el estilo habitual de sus publicaciones, penetra de lleno en los campos filosóficos e históricos.

Es Zozaya uno de los investigadores que ha tomado parte activa en el apasionante estudio de los polisacáridos bacterianos. Su conexión con los Laboratorios Mulford de Filadelfia le permitió llevar a cabo trabajos químicos con cantidades fantásticas de gérmenes, labor sólo hacadera con equipos especiales y cuando se cuenta con posibilidades económicas de centenares de miles de dólares. Fué el Dr. Zozaya el primero en señalar la posibilidad de la inmunización por medio de los polisacáridos, técnica que ahora se aplica en grande escala en el ejército americano. Sus trabajos acerca de la substancia específica soluble bacteriana se hallan catalogados en la literatura médica, entre los primeros.

Ha explorado en diversos campos bacteriológicos: en el tifo exantemático, los estreptococos hemolíticos, los gérmenes del pulque, el sarampión, las salmonelas, etc., etc.; todos sus estudios se caracterizan por la considerable cantidad de trabajo y el extenso material acumulado que emplea para hacer sus investigaciones. Es de hacer notar que muchos de esos trabajos no los ha publicado, pues tal parece que le interesa especialmente el solo hecho de investigar.

Quizá dentro de los estudios fundamentales hechos por el Dr. Zozaya, se encuentren los que tuvieron por objeto precisar la físico-química de las reacciones inmunológicas. En una serie de trabajos publicados en los Estados Unidos y en la Gran Bretaña, llega a resultados que revelan originalidad y facultades excepcionales, pues contienen millares de valiosos datos sobre viscosidad, tensión osmótica, etc.

El Dr. Zozaya posee la facultad de adaptarse a condiciones difíciles de trabajo, cosa que se ha puesto de relieve cuando ha actuado en comisiones del Departamento de Salubridad, estudiando y combatiendo la meningitis en Morelos, los supuestos brotes de peste en San Luis y en Guerrero, las epidemias de tifo en Oaxaca, así como en sus visitas a las zonas de oncocerca.

El Dr. Zozaya es ampliamente conocido en la ciencia por los numerosos trabajos que ha publicado, pero hay una parte de su vida que no ha sido valorada aún entre nosotros, y es su facul-

tad de organización; sólo la hemos podido apreciar quienes la hemos observado de cerca.

El Instituto de Higiene le debe la organización que tiene en la actualidad, pues su paso por dicha institución marcó una etapa de progreso considerable. Ese laboratorio antes no era sino sólo una casa habitación con algunas adaptaciones; al transformarlo, dejó Zozaya en cada sitio su huella personal; cada técnica que se sigue ahora, fué elaborada con sus consejos y bajo sus recomendaciones. Antes de él, la inmunología aplicada era en este país algo misterioso; enseñó las técnicas de inmunización, titulación, etc.; fué quien formó el grupo de trabajadores que dieron nacimiento a la industria nacional, privada y oficial, de la elaboración de sueros y vacunas.

Se hallaba al frente del Instituto de Higiene el Dr. Zozaya, cuando fué nombrado Director de la Rama Biológica de los Laboratorios Mulford, los que dirigió por varios años hasta que fueron fusionados con otra institución. Allí también tuvo el Dr. Zozaya la oportunidad de poder manifestar sus dotes de buen organizador. Su ética profesional lo llevó a suprimir la elaboración de productos que rendían considerables ganancias, pero que no resistían las pruebas de laboratorio.

Hay una etapa en la vida científica del Dr. Zozaya en la cual el estudio de la química de la sangre constituye uno de sus principales objetos; es entonces cuando en Oxford, Gran Bretaña, se consagra a ese tipo de investigaciones; su inagotable afán de trabajo científico lo lleva también a Italia, Alemania, la Unión de las Repúblicas Soviéticas y diversos países de Centro América.

Hallándose en Filadelfia en un Laboratorio de Investigaciones en Glendale, donde su situación era envidiable por lo tranquila y organizada, fué requerido por el Gobierno de México para poner bajo su dirección el Instituto de Higiene. No vacila en venir a su tierra natal, guiado por ese sentido de responsabilidad y de servicio frente a las necesidades colectivas, sentido más fuerte aún, cuando se trata del país de origen, que distingue a los hombres que posponen su interés personal y su bienestar, cuando se trata de servir a sus semejantes y que forma la esencia de los hombres dirigentes, ya sea de pueblos o de instituciones.

Nuevamente en sus manos, el Instituto de Higiene recibió el impulso vivificador de su personalidad, pues abrió el camino a la nueva quimioterapia, cuyos métodos juzgó indispensable que fueran conocidos y empleados por bacteriólogos e inmunólogos, ya que este tipo de medicamentos constituye el arma más poderosa y eficaz contra las enfermedades bacterianas y encierra tantas esperanzas de resultados fructíferos para el futuro.

Su paso por dicha institución fué breve, pero el surco que abrió a las nuevas ideas, fué profundo. Trasladado ahora el Dr. Zozaya al Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, continúa con el mismo afán su fecunda labor científica y ha cifrado sus esperanzas en el grupo de jóvenes que trabajan con él, guiados por su experiencia y ejemplo, por su constancia y espíritu de sacrificio. Tengo la convicción de que esta etapa de la vida del Dr. Zozaya es la de mayor importancia.

Cuán efímera e intrascendente es en realidad la actuación de un hombre de ciencia que no sepa forjar discípulos que continúen su obra y cuán intrínseco es el valor de un maestro que forma una o varias generaciones, cuyo afecto y respeto gana no por medio del resplandor de conferencias brillantes, sino por largas horas de convivencia con ellos en el laboratorio y por compartir los sacrificios que implica la investigación.

En el pasado, la ciencia se transmitía a los estudiantes haciéndoles seguir por una serie de técnicas en circunstancias y condiciones fijadas de antemano y sucedía que después, al cambiar el tipo de trabajo, el estudiante se encontraba perdido. Zozaya enseña a sus discípulos a valorizar las evidencias experimentales, no la fija ciencia del pasado, sino la continuamente cambiante ciencia del presente y del futuro, que se puede comprender tan sólo mediante la interpretación inteligente de los datos que se recogen en el gabinete de trabajo.

En la actualidad, el Dr. Zozaya es Presidente de la Sociedad Mexicana de Microbiología, rama de la Sociedad Internacional; miembro del Comité de la Sociedad Panamericana de Microbiología, Presidente de la Comisión Nacional para el Estudio de la Brucelosis y forma parte del Centro Mexicano para el Estudio de las Salmonelas, dependencia de la Estación Internacional.

Sus estudios de médico los hizo en San Luis Missouri, y los de doctor en Salubridad en la Escuela de Salubridad Pública de Harvard en Boston. Su tesis versó sobre el cólera, haciendo un extenso e interesante trabajo experimental sobre el fenómeno de Pfeifer.

Sus ideas acerca de los procesos de inmunización las ha relacionado con la química; ha considerado a las enfermedades infecciosas como cosas cambiantes, muy diferentes de como fueron en un principio y de como lo serán en el transcurso de los años. La composición química de un germen patógeno no nos aclara completamente cualidades tan variables y frágiles como la virulencia. De acuerdo con este criterio, señala el peligro de confiar demasiado en conocimientos que sólo consagra el lenguaje, así como la comparación constante que los métodos biológicos tienen con los de las ciencias exactas. Por ahora no contamos sino con un apoyo provisional de donde pueden partir los conocimientos hacia el terreno virgen, en donde está la verdad; los hechos bacteriológicos son constantemente movibles, ninguna fórmula puede fijarlos, siendo algo semejante a lo que dijo Einstein el año pasado en el Congreso Científico de Washington, refiriéndose al Universo, el que también funciona sin leyes precisas conocidas por el hombre.

El Dr. Zozaya ha sido un investigador escéptico que no ha visto en el dominio de la vida ninguna conclusión definitiva, sino que considera que tan sólo avanzamos por una ruta que se bifurca sin cesar y ni por un instante se puede esperar que el movimiento se detenga ni tampoco suponer que esos caminos lleguen a tener un fin. La vida, en todas sus formas, no intenta más que transmitirse, perpetuarse, desconoce la razón, la lógica, y la mayor parte de esos intentos de transmisión sólo son fracasos, nosotros no conocemos más que algunos de sus éxitos.

Zozaya está convencido de que progresamos en nuestro medio científico bacteriológico. Recientemente recordaba que hace más de diez años que él tuvo que requerir la protección de la policía, cuando trató de que se practicaran en las escuelas oficiales las reacciones de Schick y Dick; siendo ahora las personas que condenaron y se opusieron tenazmente en aquella época a esos

procedimientos, sus propagandistas más decididos. Aún está en su memoria la época en que la vacuna se hacía vieja en su laboratorio sin que pudiera ser administrada; en cambio ya el año pasado se pudieron distribuir miles de dosis; como este ejemplo podrían citarse muchos otros.

Como dice el Dr. Zozaya, la oportunidad para este Continente, en muchos aspectos, incluyendo el científico, es ahora mucho mayor, dadas las condiciones que prevalecen del otro lado del Atlántico y esta responsabilidad debe aceptarse y considerarse como un deber para preservar y acrecentar los conocimientos científicos, que son la herencia de muchas generaciones. Son precisamente las enfermedades bacterianas las que por sí mismas constituyen un ejemplo de solidaridad humana, ya que el peligro es común; mas es triste pensar que si fuera dable a la perversidad de los hombres utilizar nuestras propias bacterias patógenas como medios de expoliación y de conquista, quizá lo intentarían.

Con un ideal estético ha complementado su vida el Dr. Zozaya. Es apasionado de las bellas artes, y no ha mucho escribió diciendo que éstas deberían desarrollarse paralelamente a la ciencia, ideal que cristalizó en realidad una vez en Atenas, que volvió en el Renacimiento y en la época isabelina, pero que casi se ha perdido en estos tiempos llenos de periódicos, de radio, de cinematógrafo. Habla también de la necesidad de perpetuar en escritos, en lienzos o en mármoles, las emociones en su momento de mayor intensidad, para que pueda después el hombre común, cuyos sentimientos pasan con tanta rapidez, contemplar y reconocer dichas emociones, ya plasmadas estéticamente. Para hombres de sensibilidad especial como Zozaya, las emociones materializan también, y encauzadas, toman forma en los estudios químicos o en el asa de las siembras bacteriológicas.