

Dr. Albeto P. León

**“50 AÑOS DE INVESTIGACION EN MEXICO”
Marquéz López Editoriales S.A.**

**“50 YEARS OF INVESTIGATION IN MEXICO”
Marquéz López Editorial Inc.**



PREFACIO / Preface

El interés por la investigación científica se despertó en mí desde que era estudiante de Medicina, pues para realizar mi tesis profesional, siendo estudiante del 6° año de la carrera, empecé investigaciones sobre un tema original “Prevención y Tratamiento de la Peritonitis Traumáticas por la Fagoterapia” con los bacteriófagos d’Hérelle, tesis que con este nombre fue publicada en español, francés e inglés por los Laboratorios d’Herelle en 1933, fabricantes de los bacteriófagos en Francia. Siendo pasante de Medicina y practicante en el Dispensario Central de la Cruz Verde de la Ciudad de México, en donde a la razón se presentaban los servicios de urgencias en Medicina, Cirujía y Obstetricia, realicé investigaciones sobre el “Tratamiento del Choque Post-traumático con Perfusiones de Suero Fisiológico con Toxoide Tetánico”, sobre lo cual fue publicado un artículo en la Revista del Instituto Nacional de Higiene de México en 1937.

“50 AÑOS DE INVESTIGACION EN MEXICO”

Dr. Alberto P. León

El primer año del ejercicio de mi profesión en lo particular y como Médico Interno del Sanatorio Español, dedicaba parte de mi tiempo para realizar investigaciones en el Instituto Nacional de Higiene, gratuitamente y con permiso de su Director el Dr. Ernesto Cervera, sobre inmunización contra la Gonorrea con un antígeno soluble de Neisseria gonorrea que aislé de cultivos de ese germen en medio líquido. Cuando hacía esas investigaciones en 1934, recibí una beca de la Fundación Rockefeller para estudios por un año sobre Bacteriología e Inmunología con el Dr. Hans Zinsser, Professor de esas materias en la Facultad de Medicina de la Universidad de Harvard en Boston, U.S.A., después se me prolongó la beca para hacer la Carrera de Maestro en Salud Pública en la Escuela de Salud Pública de la misma Universidad. A mi regreso a mi Patria en 1936, ya con el título de Master in Public Health, reingresé al Departamento de Salubridad Pública como Supervisor Técnico, en cumplimiento de cuyas funciones fui al Estado de Veracruz a estudiar sus problemas de salud y reorganizar los Servicios Sanitarios Coordinados en ese Estado de la República.

Aquí tuve la oportunidad de realizar mis dos primeras investigaciones en el campo de la Salud Pública de México: la primera sobre “Una Epidemia de Fiebre Tifoidea en Otales, Ver.”, el artículo sobre la cual se publicó en la Revista Medicina en 1937; y la segunda sobre la “Prevalencia de la infección Tuberculosa en Jalapa, Ver. Según lo revela la tuberculino-reacción de Mantoux”, sobre la que publiqué un artículo el mismo año en la misma revista. En 1937 fui llamado a fundar y dirigir la Oficina de Epidemiología del Departamento de Salud Pública y durante mi estancia ahí como Director realicé, entre otras cosas, las dos investigaciones sobre Difteria que se publican en este libro como referencias 1 y 2. **En 1939 fui invitado por el Dr. Manuel Martínez Baez a fundar y dirigir el Laboratorio de Bacteriología e Inmunología del Instituto de Salubridad y enfermedades Tropicales que se debía inaugurar el 18 de Marzo de 1939. Este instituto cumplió en 1989 50 años de su existencia y yo cumplí los mismos 50 años de trabajar en el mismo sin interrupción, el único de los fundadores que tuvo esa gracia, más por el amor y el interés a la investigación científica y el deseo de por medio de ella servir a mi Patria.** Para celebrar el 50 aniversario de la fundación del Instituto la Dirección General de Epidemiología y la Dirección del Instituto realizaron unas Jornadas Científicas del 13 al 17 de Marzo de 1989, en cuyo programa se incluyó una conferencia mía intitulada “Cincuenta años del Laboratorio de Bacteriología e Inmunología”; lo que en esa ocasión expuse, creo que es lo mejor con que puedo continuar el Prefacio de este Libro, pues revela bien su contenido y significado.

Me tocó en suerte estar con el Dr. Eliseo Ramírez, el Dr. Manuel Martínez Baez, el Dr. Luis Mazotti, el Dr. Luis Vargas, el Dr. Enrique Beltrán y distinguidos investigadores en el Instituto de Salubridad y enfermedades Tropicales desde su fundación y, más aún, me tocó solamente a mí en gracia el permanecer en él durante los 50 años de su existencia que ahora celebramos. A través de estos 50 años se realizaron en el laboratorio a mi cargo investigaciones sobre Tifo exantemático, Brucelosis, Salmonelosis, Proteosis, Estreptococias, Meningitis meningococcica, Difteria, Lepra y Tuberculosis entre otras (Ref. 1 a 96). En la imposibilidad de distraer vuestra amable atención tanto como fuera necesario y de ocuparme en breve espacio disponible de todos los temas referidos y de todo lo

“50 AÑOS DE INVESTIGACION EN MEXICO”

Dr. Alberto P. León

que sobre ellos investigamos, me ocuparé solo y brevemente de los aspectos que yo considero más sobresalientes.

En relación con el Tifo exantemático investigamos aquí, en este Instituto, con Smadel, Ley y Verela, por primera vez en el mundo, su tratamiento con el cloramfenicol (Chloromycentin), por cuyos resultados se demostró tal eficacia, que pudo afirmarse después que con este tratamiento disponible no se justificaría más que muriera alguien de Tifo exantemático (30). Este tratamiento continúa siendo hasta el presente el de primera elección para esta enfermedad y las otras Rickettsiasis.

Referente a Tifo exantemático también investigamos nosotros entre otros aspectos, la “Interferencia de la *Salmonella enteritidis* con la *Rickettsia provenzacki mooseri* o variedad murina (41), agente del Tifo endémico en el hombre, también llamado Tifo mexicano entonces. Observamos primero que en los cobayos (*guinea pig*) de la granja de este instituto y de otras granjas muy distintas que nos surtían de esos animales para nuestras investigaciones, ocurría una epizootia causada por *Salmonella enteritidis*, que producía en el cobayo macho, al igual que lo hace la *R. Provazecki mooseri*, fiebre y orquitis, y que interfería con el desarrollo del tifo experimental de esos animales cuando eran inoculados con la cepa de *R. Provazecki mooseri* que manteníamos en esos animales. Después realizamos estudios experimentales controlados sobre esta observación y comprobamos que la *S. Enteritidis* interfiere con la infección por *R. Provazecki mooseri*. Fue esta la primera investigación sobre interferencia bacteriológica, entre bacterias y *Rickettsiae*, realizada en México y en el mundo. Posteriormente observamos que el mismo fenómeno ocurre en las ratas que son el reservorio natural del Tifo murino. Como consecuencia de esta fenómeno o como mera coincidencia, el hecho es que desde entonces empezó a observarse una franca declinación del tifo endémico de origen murino en el hombre y en los roedores, hasta casi su extinción.

Sobre las Shigellosis, un hecho muy importante de mencionarse, es nuestra investigación sobre la etiología de una epidemia de disentería de grandes proporciones que ocurría en el Estado de Tabasco y que afectó en 1941 a su capital Villahermosa, a Cárdenas y varias poblaciones más, de numerosos de cuyos casos aislamos e identificamos la *Shigella dysenteriae shiga*, entonces aislada por primera vez de casos autóctonos y de una epidemia de disentería en las Américas, pues esta especie de *Shigella* antes era considerada como asiática. Durante esta epidemia también encontramos que un derivado de la sulfanilamida, la Sulfadiazina, resultó muy eficaz para el tratamiento y la prevención individual de los casos de disentería. Entonces no se contaba con otro recurso específico terapéutico. Aparte de la purificación del agua potable, que fue el medio de propagación de la *Shigella dysenteriae* en esta epidemia, no había tampoco otra cosa que hacer para prevenir los casos (27).

La Brucelosis fue el campo sobre el que más investigaciones realizamos, por encontrar que era un problema serio en México. Investigamos que su etiología y epidemiología, encontrando que la *Brucella melitensis* es con mucho la más frecuente como causa de los humanos en México, así como que las cabras constituyen el principal reservorio de esta zoonosis en nuestro país (32); que la “Prevalencia de la Brucelosis humana en México según lo muestra la encuesta por

“50 AÑOS DE INVESTIGACION EN MEXICO” Dr. Alberto P. León

medio de la cutireacción de Brunet y las reacciones de Fijación del Complemento y de Aglutinación” era en 7 de los 8 localidades investigadas incluida la ciudad de

México, del 26% de la población infectada por la *Brucella* y el 5,8% enferma de Brucelosis (68).

“La alergia den la Brucelosis” también la investigamos (26) (29), confirmando lo reportado por Brunet, que esta enfermedad induce en el hombre como lo hace la tuberculosis, una hipersensibilidad retardada o alergia, que se manifiesta en la piel por la inyección intradérmica de suspensiones de *Brucella* muerta o sus fracciones antigénicas. Además observamos que en las conejas y cobayos el contacto del útero perfundido con la *Brucella* o sus fracciones provoca contracciones violentas y específicas que revelan la hipersensibilidad del músculo uterino la *Brucella* cuando los animales han sido previamente sensibilizados y el por qué la Brucelosis causa el aborto en las vacas, en las cabras, en los cerdos y otros animales. Además encontramos que el estado de alergia en el hombre, inducido por la infección natural y responsable probable de muchos de los síntomas de la enfermedad, aumenta con el tiempo y evolución de la enfermedad y persiste por años, casi indefinidamente, en la máxima intensidad, inyectados por vías intradérmicas o subcutánea periódicamente, con la dosis pequeñas, progresivamente crecientes, de suspensiones de *Brucella* muerta por el formol, la hipersensibilidad disminuye progresivamente y llega a desaparecer, y, mientras esto sucede, aumenta la resistencia de los enfermos tratados a la infección. A este proceso lo llamamos de inmunodesensibilización y lo aplicamos y seguimos aplicando, con éxito, en el tratamiento de la Brucelosis humana, asociado a la quimioterapia (42, 44), inicialmente con el cloramfenicol y la estreptomina y posteriormente con la eritromicina y la estreptomina (52).

Otro tema que considero importante en nuestra investigación sobre Brucelosis es “La atenuación de la virulencia de una cepa de *Brucella melitensis*” que aislamos por hemocultivo de un caso humano de Brucelosis y luego fue cultivado en gelosa triptosa con bilis de buey en pases sucesivos, cada 48 a 96 horas durante 720 pases, o sea durante 6 años. Esta cepa, que designamos *Brucella melitensis* 899B, se atenuó en forma tal que prácticamente perdió toda su patogenicidad para los animales de laboratorio y las cabras. No presintió la infección en los ratones blancos inoculados con ella, ni causó signos clínicos ni lesiones anatomopatológicas; no causó el aborto en cabras adultas inoculadas aún durante el embarazo, ni eliminó en la leche por las cabras inoculadas pre o post-partum. En cambio esta cepa de *Brucella melitensis* 899B conservó sus características de la variedad “S” y totalmente sus propiedades antigénicas. Protege, cuando con ella se vacuna, a los animales de laboratorio y a las cabras de la infección experimental con la *Brucella melitensis* virulenta y también protegió a las cabras de la infección natural y el aborto cuando estuvieron por más de dos años en contacto con cabras infectadas y controles susceptibles (73, 76, 83).

Un tema más de importancia en nuestras investigaciones sobre Brucelosis es la demostración de que hay cabras, al igual que conejos y cerdos, naturalmente inmunes a la *Brucella* (66, 78) y que esa inmunidad es hereditaria, monofactorial, simple, autosómica y recesiva (78); hecho que se puede determinar fácil y simultáneamente por la vacunación de las cabras con *Brucella melitensis* 899B por

“50 AÑOS DE INVESTIGACION EN MEXICO” Dr. Alberto P. León

vía conjuntiva, haciendo la reacción de Huddleson pre y post vacunación, pues las cabras inmunes, rectoras negativas antes de la vacunación, no se convierten en rectoras positivas por la vacuna, mientras que las cabras susceptibles si lo hacen.

Se puede así seleccionar las cabras inmunes para su posterior cruce y como todas sus descendientes serán también inmunes, establecer de ese modo en el país ganado toda y definitivamente inmune y erradicar de este modo la Brucelosis de origen caprino en el hombre. Estos conocimientos y técnicas están en espera de la decisión de ser aplicados para la erradicación de la Brucelosis. Ojalá no tengan que esperar más de siglo y medio, como tuvo que esperar la vacunación antivariolosa para acabar con la viruela.

Sobre Salmonelosis creo importante mencionar entre nuestras investigaciones las que hicimos referente a la “Acción del alumbre sobre la *Salmonella typhi* y *S. Paratyphi A y B*” (3), por las cuales encontramos como hecho importante que el alumbre precipita las cepas de *S. Typhi* que contienen el antiguo “Vi”, antígeno que es de enorme importancia porque como lo demostraron Felix y Pitt, sus descubridores en 1934, y Felix y Bhatnagar después, es el antígeno que confiere virulencia e inmunogenicidad principalmente a ese germen. Nuestro hallazgo demostró por primera vez la posibilidad de identificar la presencia de este antígeno con un agente químico, el alumbre, y una sencilla reacción, la precipitación. Poco después, por medio de esta reacción, demostramos la presencia del antígeno “V” en cuatro cepas de *Salmonella sendai* que aislamos de una epidemia diagnosticada clínicamente como la Fiebre tifoidea que ocurrió en 1941 en la Ciudad de México (5). Por métodos serológicos de aglutinación y absorción se demostró plenamente la identidad de este antiguo “Vi” de la *S. Typhi*. Este hecho fue confirmado por Bonstein, quien al comentar nuestra investigación termina diciendo: “The observation of Vi antigen in strains of *S. sendai*, which could be confirmed in this laboratory, is an important contribution to our knowledge of *Salmonella* serology”. Observamos además que el alumbre tiene bactericida a pequeñas dosis, que conserva y exalta las propiedades antigénicas de los gérmenes precipitados y que una sola dosis de *S. Typhi* y *S. paratyphi* precipitadas confiere inmunidad en proporciones superiores que tres dosis de suspensiones de igual concentración no precipitadas (4). Fundados en las conclusiones referidas preparamos vacunas anti Tifoparatíficas precipitadas por el alumbre con las que se vacunaron varios cientos de personas en las que se estudió la respuesta inmunológica. Por estas investigaciones concluimos que una dosis de la vacuna estandar (4). Posteriormente investigamos la “Importancia de las fracciones antigénicas de las *Salmonella* en la inmunidad inducida (6). Por estas investigaciones concluimos que “Los antígenos somáticos y flagelares específicos y no específicos confieren inmunidad contra la especie homóloga y el grupo de especies de *Salmonella* que contienen el mismo antígeno en común; las conclusiones anteriores constituyen el fundamento teórico de la posibilidad de inducir inmunidad activa artificial contra la mayoría de las *Salmonellas* patógenas para el hombre, por medio de vacunas que contengan en cantidad adecuadas suspensiones de tres o cuatro especies de *Salmonella* que comprenda los antígenos correspondientes a los grupos a que pertenecen las especies encontradas más frecuentemente en los estados patológicos de una población”.

“50 AÑOS DE INVESTIGACION EN MEXICO” Dr. Alberto P. León

En relación con la Lepra investigamos, en colaboración con el Dr. Latapí y el Dr. Malacara, el diagnóstico serológico de esta enfermedad, evaluando la sensibilidad y especificidad de una reacción de Fijación del Complemento cualitativa y una reacción de precipitación, en las que usamos como antígeno una fracción polisacárido extraída de *M. tuberculosis* var. BCG, por cuyas investigaciones

concluimos que la Reacción de Fijación del Complemento es altamente específica, excluidas la tuberculosis y el micetoma actinomicético que también dan la reacción positiva, por ser aquel polisacárido una fracción antigénica común a los tres Actinomicetales causantes de estas enfermedades, y que también es la reacción muy sensible, pues es positiva en el 93,4% de los casos de Lepra lepromatosa y aún en el 42% de los casos de Lepra tuberculoide con baciloscopia negativa al *M. lepra* (77). Posteriormente continuamos investigando sobre efecto del tratamiento de la Lepra o del tiempo de evolución sobre el resultado de la reacción cuantitativa de Fijación del Complemento, ya en la persistencia, aumento o declinación de los títulos o su negativización, en comparación con lo que sucede con la baciloscopia (80). Por estas investigaciones concluimos que la reacción de Fijación del Complemento cualitativa, que como antes dijimos tiene valor diagnóstico, sirve además para evaluar un agente o método terapéutico; conclusión opuesta a la que llegaron 30 años atrás Lowe y Greval, quienes obtuvieron resultados positivos casi solamente en casos con baciloscopia positiva, usando el antígeno W.K.K. (Witebsky, Kligestein y Kuhn) y una técnica cualitativa, conclusión que domina aún en la actualidad el criterio de muchos sobre el valor diagnóstico de la reacción de Fijación del Complemento para la Lepra; pero que ahora es necesario cambiar.

Nuestra siguiente investigación en relación con la Lepra fue un “Ensayo piloto de *tratamiento a corto plazo* de la Lepra por Quimioterapia e Inmunoterapia Asociadas (QIA)” (89). Por cuyas investigaciones concluimos que la quimioterapia con la rifampicina asociada a la inmunoterapia con POG (polisacárido del *M. tuberculosis* con IgG) es un método terapéutico anti leproso que parece más efectivo que la quimioterapia sola y que merecía posterior investigación, pues por la nuestra se observó que con este método se logra rápida mejoría clínica, en la baciloscopia la negación del Índice morfológico en 3 meses y la negativización del Índice bacteriológico en un año. Esta investigación posteriormente fue realizada por varios investigadores (91) entre los cuales debo mencionar a Saint André, quien en 1978 usó BCG o fracciones glucoproteicas del BCG con rifampicina y DDS; a Kim quien también usó el BCG más rifampicina y DDS; a Nazarov y Gnenynck quienes usaron el Factor de Transferencia y DDS, todos con resultados buenos o satisfactorios. Con nuestra investigación fuimos los primeros en el mundo en incursionar en el campo de la quimioterapia e inmunoterapia asociados de la Lepra y los primeros en América Latina en usar y reportar los resultados del tratamiento de la Lepra con rifampicina. Sobre Tuberculosis nuestras investigaciones fueron principalmente en la relación con la vacunación con el BCG: Después de revisar, analizar y evaluar los trabajos hechos en este campo en el mundo, desde su descubrimiento en 1900 por Calmette y Guérin hasta las experiencias controladas de Holm en Dinamarca y de Ferguson en Canadá en los años cuarentas, publicamos un artículo y sugerimos a las autoridades de Salud que “El BCG debe emplearse en México en la lucha contra la Tuberculosis” (9). Nuestra sugerencia fue escuchada y en 1949 fue inaugurado el Instituto del BCG de México al que se me había invitado a fundar y luego a dirigir

“50 AÑOS DE INVESTIGACION EN MEXICO”

Dr. Alberto P. León

por 17 años, cuyo Instituto se encargó de la preparación e inicialmente de la aplicación y control de la vacuna BCG. Se preparó y se aplicó primero solamente en la Ciudad de México, pronto en varios Estados de la República y poco después, a solicitud control y costo de la OMS y del UNICEF, se preparó también para todos los países de Centro América, varios del Caribe y de Sudamérica, porque la vacuna fresca BCG hecha entonces en México fue considerada como una de las mejores del Mundo por el Instituto Serológico del Estado en Copenhague, laboratorio de

referencia y control de la OMS para el BCG. Posteriormente y hace varios años la vacuna con el BCG está incluida en el PAI (Programa Ampliado de Inmunización) en la mayoría de los países, por reconocimiento de la OMS.

Siguiendo en el campo de la vacunación contra la tuberculosis investigamos posteriormente, en forma comparada y controlada, la “Inmunoloencidad de la vacuna BCG fresca y desecada (90, 96)”, cuyos resultados mostraron la superioridad de la vacuna fresca y la poca inmunogenicidad de la desecada; tema que ha sido bastante investigado por muchos investigadores; pero también muy debatido por varios, pues esa conclusión no es aceptable por los países industrializados que comercian con el BCG desecado.

En el campo de la tuberculosis también investigamos, con la colaboración del Dr. Rébora, Director del Sanatorio de Tuberculosos Manuel Gea González, del Dr. González Ochoa y del Dr. Molina Pasquel, el “Diagnóstico serológico de la Tuberculosis por la Reacción de Fijación del Complemento” (74) usando como antígeno la fracción polisacárido obtenida del *M. tuberculosis*, cepa BCG antes referida. Por estas investigaciones concluimos que la reacción de Fijación del Complemento es altamente sensible, pues positiva en el 72% de todas las formas de tuberculosis mientras que la búsqueda *del M. tuberculosis* por baciloscopia y cultivo fue positiva solamente en el 63,6% de los casos y en cambio con ambos métodos los resultados fueron positivos en el 88,0%. Concluimos también que la reacción de Fijación del Complemento es altamente específica, pues dió resultados negativos en el 95% de los enfermos de otros padecimientos no tuberculosos, excludosla Lepra y el Micetoma actinomicético. Fué también negativa en el 100% de los individuos sanos tuberculino positivo y tuberculino negativos. El diagnóstico serológico de la tuberculosis adquiere en el presente más valor y actualidad debido al aumento de la tuberculosis en varios grupos de población y regiones del mundo. Se sabe actualmente que la tasa de progresión desde una infección tuberculosa asintomática hasta la enfermedad manifiesta, aumenta en las personas infectadas también con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), por lo cual Slutkin et àl. en 1988 en su trabajo sobre “Tuberculosis y SIDA” presentado en la Primera Conferencia Mundial sobre el Impacto Mundial del SIDA, afirmaron que “ Sería de enorme utilidad la posibilidad de contar con un marcador serológico de la tuberculosis”.

La última investigación sobre tuber4culosis, pero no la menos importante, que quiero referir, es la “Prueba de la fagocitosis por los macrófagos “in vivo” para evaluar la inmunogenicidad de las vacunas anti *M. tuberculosis*” (93), por cuyas investigaciones observamos que los cobayos inmunizados con la *vacuna BCG fresca* o con POM, la fagocitosis de los bacilos *M. tuberculosis* de reto inoculados por vía

“50 AÑOS DE INVESTIGACION EN MEXICO”

Dr. Alberto P. León

intraperitoneal son casi totalmente fagocitados, por lo que su multiplicación en el peritoneo es muy limitada y no se disemina a los órganos distantes como el hígado y el bazo; en cambio en los cobayos susceptibles no vacunados testigos o en los vacunados con la vacuna BCG desecada los bacilos de recto son poco fagocitados y sí se diseminan al hígado y el bazo. Juzgando por este criterio se puede concluir si una vacuna incluye inmunidad o no, antes de proceder a su aplicación a los humanos.

Deseo expresar mi agradecimiento a los siguientes profesionistas que colaboraron conmigo en mis investigaciones y que no mencioné en el texto de esta comunicación; pero que constan en las referencias: Dr. R.V. Hernández, Dr. Escaranza, L. Navarro, E. Barrasa, Dr. L. Lezma, F. Apodaca, J.G. Morales, Dr. A. Cornejo, C. Cano, B. Jiménez, Dr. N. Aguirre, G. Santamaría, M.E. Vergara, M.L. Troncoso, B. Bilbao, B. Pérez, Dr. H. Hernández y Silva y E. Argott.

Dr. Alberto P. León