

DEPARTAMENTO NACIONAL DE HIGIENE

AÑO XVII

BUENOS AIRES. FEBRERO DE 1910

Nº 2

I

TRABAJOS ORIGINALES

LABORATORIO DEL DEPARTAMENTO NACIONAL DE HIGIENE

Experiencias sobre esterilización de la leche por el agua oxigenada con relación á los bacilos de la tuberculosis. (*Buddización*).

POR MARCIAL P. ECHEVERRY

Farmacéutico

El primer punto á considerarse respecto al uso de la leche para la alimentación, es de que proceda de vacas perfectamente sanas (trato exclusivamente la leche de vaca) pues, si son animales enfermos, transmiten al cuerpo humano por medio de la leche las bacterias que producen y acompañan sus enfermedades.

Se ha dicho que una inspección veterinaria que ejerciera severo contralor sobre las vacas lecheras (productoras) sería la medida más simple y eficaz, pues, permitiría el inmediato aislamiento de los animales enfermos ó que presenten síntomas sospechosos, pero esto mismo no se ha conseguido establecer en países europeos, pues, si bien algunas grandes lecherías de Dinamarca y Suecia lo establecieron, fracasó en la práctica debido al costo prohibitivo de la inspección.

Desgraciadamente aun cuando se vencieran todas las dificultades y la inspección veterinaria llenara su misión, la leche, proveniente de vacas sanas, no estaría exenta de bacterias, pues, es sabido que dicho alimento es uno de los mejores vehículos para la propagación de las bacterias y es imposible evitar prácticamente su infección.

La leche, tal como existe en una vaca sana, se encuentra libre de bacterias, pero, inmediatamente que sale de las mamas comienza á enriquecerse de estos elementos (bacte-

rias) que tienen su origen en las grietas que se producen en las mismas mamas, en los envases y en gran parte en las manos del operador, habiéndose constatado casos en que, debido á esta última causa, la leche ha sido vehículo de enfermedades como fiebre tifoidea, escarlatina, sarampión, cólera asiático, tuberculosis etc.

Una vez extraída la leche debe impedirse la multiplicación de las bacterias, habiendo unos que aconsejan un inmediato enfriamiento y otros que opinan debe dejarse por algún tiempo á su temperatura normal, pero hasta ahora sólo se aconseja como el medio más práctico colocar la leche en grandes tarros bien esterilizados, cerrados y sellados, para el transporte y en botellas en iguales condiciones para el reparto á domicilio.....

La leche es uno de los alimentos más importantes para la raza humana, pues, contiene todas las materias alimenticias en un estado fácilmente digeribles. Autoridades en la materia, como el doctor C. Budde, profesor de la universidad de Copenhague, llegan á sostener que la leche contiene en sí elementos que actúan con la digestión y que son las diferentes enzimas y cuerpos análogos.

Estos elementos dejarían de existir en el caso de hacer hervir la leche, determinándose por este caso la menor digestibilidad de la leche cocida y su inferioridad sobre la cruda.

La leche de vaca contiene agua, manteca, caseína, lactosa y sales minerales en proporciones que varían según las razas, climas, estación del año, alimentación y el estado de salud del animal.

El siguiente cuadro da una idea de la proporción de substancias por ciento:

Agua.....	85	á	90	%
Extracto seco.....	15	»	10	»
Manteca.....	2	»	6	»
Caseína.....	2,5	»	4,5	»
Lactosa.....	3,5	»	5,5	»
Sales Minerales.....	0,5	»	1,10	»
Densidad.....	1,028	»	1,034	»

Además, contiene según Duclaux palmitina, estearina, oleína, butirina, caprionina, ácidos fijos, palmítico, esteárico, oleico y ácidos volátiles, butírico, caprónico, caprílico etc.

Los diferentes métodos usados en la práctica para el tratamiento de la leche pueden dividirse en dos grupos:

- 1º Método por enfriamiento y calentamiento.
- 2º Métodos por procedimientos químicos:

.....
En el primer caso ó sea en el tratamiento por calentamiento se puede asegurar que todos los elementos sufren alteración.

La caseína comienza á sufrir un cambio á los 79° c. Cuando se calienta sobre la temperatura de ebullición adquiere propiedades distintas á la caseína original. Las materias albuminosas se coagulan y en parte se destruyen produciendo hidrógeno sulfurado, el azúcar se carameliza parcialmente, las lecitinas y citratos se destruyen, los fosfatos de cal se vuelven insolubles y todos los enzimas y substancias análogas que hay en la leche son destruídas completamente.

Pero esto no sólo sucede en teoría, la práctica se encarga de comprobarlo y para ello voy á citar los trabajos de Pries en New York en 1904 y los de Behring en 1899.

Pries hizo su experiencia con terneros alimentados todo el tiempo con leche de las mismas vacas.

En el primer período se les dió leche fresca, en el segundo leche calentada durante 10 minutos á 59°c, y en el tercero leche calentada durante 30 minutos á 70°c. Los terneros permanecieron bien en el primer y segundo período pero fueron atacados por agudas diarreas tan pronto se les dió leche calentada por espacio de 30 minutos á 70°c, y esta diarrea no pudo ser suprimida ni aun con el uso de diferentes remedios, sino cuando se les dió de nuevo leche fresca y recién después de haberla tomado varios días.

Los terneros aumentaron de peso con la leche fresca y disminuyeron con la leche calentada.

Behring en 1899 hizo la siguiente experiencia. Tomó 32 terneros, alimentó 22 con leche esterilizada y 10 con leche fresca, durante ocho semanas, observando minuciosamente el aumento de peso consumo y aprovechamiento de la leche, obteniendo al fin de las ocho semanas, los siguientes resultados.

Los terneros alimentados con leche esterilizada aumentaron 95, 29% término medio y los alimentados con leche fresca 154, 49%.

Como se, ve el aumento habló muy alto en favor de la leche fresca, demostrándose que, *cuanto más se eleve la temperatura de la leche ésta se vuelve menos atacable por los fermentos de la digestión del organismo humano es decir, se hace menos digerible.*

Actualmente en nuestra ciudad funciona una institución denominada «Gota de leche» donde se esteriliza leche con autoclave á 105°-108° en pequeñas botellas de tapa resorte sistema Leune y que se da á los niños de meses, previa

revisión médica y según un cuadro que guarda una relación estrecha entre el peso y la edad.

Sin embargo, sea porque la leche debe darse con agua hervida y sin duda no se cumple esta disposición por las madres ó encargados de los niños, sea por otras causas, el resultado aunque halagüeño, no responde á los esfuerzos, siendo de notar el gusto excesivamente azucarado que tiene la leche después de esterilizada á 105—108° muy parecido al característico del «dulce de leche» lo que indica bien á las claras que dicha leche ha sufrido una seria transformación.

En cuanto al método por enfriamiento Rocques en su libro «Les industries de la conservation des aliments» dice. «El frío es seguramente uno de los mejores medios de conservar la leche sin hacerle sufrir alteración sensible. Cuando la leche es mantenida á una temperatura de +2° á +3° no tiene lugar la acción de los fermentos de alteración».

Habla de dos grandes procedimientos, uno de Guerín que consiste en enfriar la leche haciéndola circular en vasijas envueltas en un baño refrigerante, y otro que denomina «Procedimiento Casse» y que consiste en congelar una parte de la leche y mezclar esta parte congelada á la leche restante á fin de mantenerla á temperatura baja. Ambos procedimientos poco usados, pues, requieren un material de trabajo sumamente costoso.

Referente á la pasteurización es un error, dice Budde, usarlo para la leche. El método de Pasteur, fué, ideado para el vino y no puede ser aplicado en la misma forma á la leche, máxime cuando el término «pasteurización» es muy vago. En algunos puntos de Dinamarca, por ejemplo se pasteuriza á 60, 70, y 75° pero entonces tiene poca acción sobre las bacterias que se quiere destruir.

Gerard en su tratado «Technique de Sterilization» declara que considera la «pasteurización» como un método incompleto, que no presenta garantías suficientes de esterilización y destruye la mayor parte de los fermentos solubles (liposa-fermentos, oxidantes, etc).

Por último nos queda la tindalización, que es la esterilización de la leche por calentamiento discontinuo, que se efectúa sometiendo la leche puesta en frascos á una temperatura de 100° c, durante media hora y repitiendo durante tres días, una vez por día, este tratamiento á 100° c.

La leche queda perfectamente esterilizada pero tiene el inconveniente de la elevación de temperatura, ser muy largo y de mucho costo.....

El método por procedimientos químicos consiste en agregar á la leche substancias bactericidas las cuales pueden agruparse en dos series: substancias que permanecen en la leche y substancias que se eliminan.

Entre las substancias que permanecen encontramos: Acido bórico, salicílico, benzoico, formaldehida, fluoruro de sodio, substancias que deben rechazarse en absoluto, pues su uso continuo produciría efectos nocivos en el organismo humano y por eso están prohibidas en la mayor parte de los países civilizados.

Entre las substancias que después de agregarse á la leche pueden eliminarse, se encuentran: el eter, cloroformo, cloruro de etilo, cloruro de metilo, oxígeno, ácido carbónico, agua oxigenada, etc; pero la mayoría de éstas substancias es difícil eliminarlas por completo, muchas de ellas influyen desfavorablemente sobre los componentes de la leche y sólo el oxígeno, ácido carbónico y agua oxigenada se exceptúan, teniendo de inconveniente el oxígeno y ácido carbónico que deben usarse á temperaturas elevadas y bajo fuerte presión (alterando por esta causa la leche) quedando sólo el agua oxigenada que es el método del cual me voy á ocupar en este trabajo, estudiando un procedimiento conocido desde hace años con el nombre de buddisación, estudiado y modificado por Lew, Devacle, Vandevelde y Sugg en 1906, perfeccionado por Munde y Römer en el mismo año, y que actualmente se trata de implantar en Buenos Aires con una modificación más, que indicaré á su tiempo.

El agua oxigenada es una combinación de volúmenes iguales de hidrógeno y oxígeno, conteniendo cada molécula á más del agua un átomo de oxígeno y respondiendo á la formula $H^2 O^2$.

Posee propiedades que se manifiestan por reacciones enérgicas lo que permite dosarla fácilmente.

Es así que ciertos cuerpos como el bióxido de manganeso, el carbón en polvo la descomponen sin sufrir ellos mismos ninguna modificación; otros la descomponen apoderándose de su oxígeno, transformándose en esa forma ciertos metaloides en ácidos correspondientes, ciertos metales en óxidos, otros en fin tales como el ozono, óxidos de plata, plomo, mercurio, etc., por un fenómeno de reducción descomponen el agua oxigenada y ellos mismos son descompuestos, pasando los óxidos al estado de metales y el ozono transformándose en oxígeno ordinario.

La terapéutica hace actualmente uso del agua oxigenada como uno de sus mejores elementos. Es altamente recomendada en el tratamiento de las heridas, de las úlce-

ras sifilíticas y de las llagas; en pulverizaciones se usa en la difteria; en inyecciones contra la cistitis purulenta y al interior contra la diabetes (Dupuy, Cours de Pharmacie).

Fácilmente se descompone en oxígeno ordinario y agua ($2\text{H}^2\text{O}^2 = 2\text{H}^2\text{O} + \text{O}^2$), suponiéndose que este proceso se efectúa en dos fases: el átomo de oxígeno se disocia primero ($\text{H}^2\text{O}^2 = \text{H}^2\text{O} + \text{O}$) y se combina después con otro átomo de oxígeno formando oxígeno ordinario ($\text{O} + \text{O} = \text{O}^2$). *Durante un tiempo muy corto el oxígeno desarrollado se encuentra al estado uniatómico*, en cuyo estado demuestra poseer una afinidad y usualmente se expresa esto diciendo que el oxígeno en estado naciente ejerce mayor acción oxidante que en su estado ordinario, lo que puede explicar elocuentemente las enérgicas cualidades oxidantes del agua oxigenada.

Generalmente el agua oxigenada del comercio contiene alrededor de 3 por ciento de H^2O^2 , pero su concentración está expresada en volúmenes. Así cuando decimos tal agua oxigenada es á 10 volúmenes, quiere decir que el oxígeno que deberá desarrollar por la descomposición de todo el H^2O^2 presente tendrá un volumen 10 veces mayor que el de la solución original.

Sus cualidades bactericidas son notables, detienen rápidamente las fermentaciones y las putrefacciones; según Miguel impide todo desarrollo en el caldo á la dosis de 1 por 20.000

Bié, estudiando los efectos de la luz en 1903, adelantó mucho las investigaciones sobre el agua oxigenada, dando como uno de sus resultados que 1000 bacterias pueden ser destruídas por 0,0000000084 gramos de H^2O^2 y Shulon en su estudio especial sobre microorganismos patógenos dice que el 1% destruye en algunos minutos la mayor parte de las bacterias poco resistentes, como el bacilus tífico, el spirillo del cólera, el pneumococo etc., pereciendo los esporos del carbunco en menos de una hora en una solución de 2 por ciento, y resistiendo en algunas horas en una solución al 1 por ciento.

Este gran poder germicida del agua oxigenada ha inclinado á varios hombres de ciencia á examinar la posibilidad de usarla para la esterilización de la leche, distinguiéndose entre estos Chick, Rosam, Budde, Laew, Der-vacle, Vandevelde, Sugg, Munnch y Römer.

Conocemos ya las cualidades bactericidas del agua oxigenada, pero estudios profundos han llegado á demostrar que á más de las cualidades antedichas, el agua oxigenada en la leche, y á temperatura, desarrolla una acción más fuerte aun y que Budde llama efectos *germicidas secundarios del peróxido* de hidrógeno.

«Estoy convencido, dice Budde, que este poder secundario es debido á la formación de oxígeno en *statu nascenti* ú oxígeno uniatómico. Ha sido demostrado que las *propiedades bactericidas y químicas del oxígeno naciente* son mucho más enérgicas que las del oxígeno ordinario; ahora bien la leche contiene una enzima, catalasa, que tiene el poder de descomponer el peróxido de hidrógeno, que se le agrega á la leche y *desprende consecuentemente oxígeno en estado naciente*. Modificando en diferentes formas las condiciones de mis experiencias me he decidido por la temperatura de 50° á 52° como la más favorable para los efectos germicidas secundarios».

¿Pero, cual es la acción fisiológica del agua oxigenada?

Hasta ahora, la parte fisiológica que el agua oxigenada representa en la naturaleza viviente, no ha sido aun determinada con seguridad.

Erlenmeyer emitió en 1877 su hipótesis de asimilación del carbono y reparación del oxígeno en las plantas, dependiendo de la formación y descomposición del peróxido de hidrógeno, pero no sospechaba por cuales medios se producía esta descomposición.

Desde tiempo atrás se sabía y varios autores sostuvieron que extractos del mundo orgánico poseían el poder de descomponer el peróxido de hidrógeno, pero recién se obtuvo una explicación clara de este fenómeno, cuando Oscar Lew en 1901 publicó su trabajo: «Catalase, á New Enzyme of General occurrence.» Lew probó en sus extensas investigaciones que el poder de descomponer el peróxido de hidrógeno era causado por una enzima hasta entonces desconocida y á la cual llamó «Catalasa» y que esta enzima se encontraba en todas partes en el reino vegetal y animal.

Desde entonces muchos hombres de ciencia han continuado estos trabajos, distinguiéndose Senter, Vandeveldt y Leboncq, Kastle y Loewenhardt en 1903; Leibermann y Batelli en 1904, y Euler en 1905, entre los que más han trabajado.

Lew dice «no existe un grupo orgánico, ó un simple órgano, ó tan sólo una célula, que no contenga catalasas y como la catalasa existe en todo el organismo y es capaz de destruir todo rastro de agua oxigenada tan pronto como se forme, resulta completamente imposible que el agua oxigenada pueda encontrarse nunca en células vivientes». Para obtener efectos nocivos con el agua oxigenada sería necesario introducirla en tan grandes cantidades que las catalasas de las células se destruyeran, pero para conseguir esto se debería emplearlo en cantidades mucho mayores que las necesarias para la esterilización de la leche.

Es evidente, pues, que el agua oxigenada posee todas las condiciones deseables como conservador de materias alimenticias, y que es absurdo compararla con substancias como la formalina, el ácido bórico ó la mayoría de los antisépticos, que se acumulan en el organismo y son causa de una intoxicación crónica.

El agua oxigenada destruyéndose tan pronto como se introduce en el organismo no puede acumularse.

Que el agua oxigenada se descompone y no produce intoxicaciones en el cuerpo humano nos prueban los experimentos de Rosam, el cual alimentó cerdos de Guinea por espacio de un mes con leche esterilizada, á la cual había agregado 1,5 á 3 % de agua oxigenada. Como esta leche era esterilizada, se encontraba libre de catalasa, y por lo tanto no podía descomponer parte alguna de agua oxigenada.

Los cerdos aumentaron de peso y no pudo descubrirse en ellos rastro de enfermedad alguna. Rosam, personalmente, bebió durante cierto tiempo leche pasteurizada con una fuerte cantidad de agua oxigenada, 3 por ciento, sin notar trastorno ó rastro de efecto nocivo.

Budde, dice haber bebido agua común adicionándole grandes cantidades de agua oxigenada, sin sufrir alteración alguna en su organismo.

Pero, si además de esto, agregamos que el agua oxigenada introducida en la leche para su esterilización, no va al organismo, sino que se descompone por medio de la catalasa existente en la misma leche ó colocada *ex profeso* (como explicaré más adelante) ¿no surge de aquí que es el método ideal, pues, destruye los microbios patógenos y evita su auto-acidificación durante mucho tiempo?

Quedaría por estudiar los efectos del agua oxigenada sobre los compuestos de la leche y la influencia que ejerce sobre el sabor de esa misma leche.

Referente á los efectos del agua oxigenada sobre los componentes de la leche, de las investigaciones de Bert y Reynard resulta que el agua oxigenada no tiene influencia sobre las diastasas, la albúmina, la caseína, la grasa (gordura), la lactosa, etc.

Vandevelde establece que el agua oxigenada tiene el poder de cambiar parcialmente las materias albuminosas coagulables en no coagulables, pero esto que observó Vandevelde fué debido á que usó cantidades enormes de $H^2 O^2$ en relación con la que se usa para la esterilización de la leche y que sometió la leche á esta acción excesivamente fuerte por muy largo tiempo (15 días).

Según Budde las proteosas y lipasas en la leche per-

manecen inalteradas por el $H^2 O^2$; en cuanto á las oxidadas, no conteniéndolas la leche humana, parece que no fueran necesarias al organismo humano cuando puede existir y desenvolverse perfectamente sin ellas.

La influencia del $H^2 O^2$ sobre las catalasas en la leche es de importancia especial para nuestra presente cuestión.

Las catalasas tienen, como ya lo hemos determinado, la cualidad característica de descomponer el agua oxigenada en oxígeno y agua, oxidándose ellas mismas por el oxígeno libertado.

Hay un límite, sin embargo, en la cantidad de $H^2 O^2$ que puede ser descompuesto por una cantidad dada de catalasas.

Por un aumento de temperatura el efecto catalítico de las catalasas aumenta en energía, de donde la oxidación de las catalasas es más rápida que la elevación de temperatura.

Entonces si á una substancia que tiene catalasas como la leche, le agregamos $H^2 O^2$ y dejamos á temperatura ordinaria, se observa un desarrollo lento de oxígeno, el cual continúa por largo tiempo, disminuyendo lentamente de intensidad, hasta que por último cesa, sea por haber desaparecido el $H^2 O^2$, sea porque se agregó en tal cantidad que las catalasas han quedado inertes. En cambio, si en lugar de la temperatura ordinaria usamos de una temperatura de $50^{\circ} c.$, el oxígeno que se desarrolla, *si bien es de una corta duración, tiene mucho mayor efecto*, pudiéndose decir con más ó menos verdad que las bacterias poseen menor poder de resistir á $50^{\circ} c.$, que á la temperatura ordinaria.

En cuanto á la influencia del sabor es evidente que aun en muy pequeñas cantidades se nota, por su gusto metálico, gusto que no desaparece sino cuando no hay agua oxigenada en la leche; pero conociendo la cantidad de agua oxigenada que hay que agregar para que las catalasas de la leche puedan descomponerla totalmente, ó procediendo como hemos hecho en nuestros experimentos, agregando catalasa para eliminar el exceso de agua oxigenada, se subsana este inconveniente, que puede ser muy grande y hacer que la leche sea rechazada por su mal sabor.

Entre los métodos que aplican el agua oxigenada para la esterilización de la leche encontramos el de Budde, Lew, Dewacle, Vandevelde y Sugg, y como un perfeccionamiento del primero el de Munch y Römer.

Por el método de Budde se calienta la leche á $50^{\circ} c.$, se le agrega 0,03 á 0,035 % de $H^2 O^2$ en forma de solución de

H² O² de 3 %, y se agita para obtener una completa esterilización, por espacio de 15 á 30 minutos, después se vierte la leche en botellas, las que se colocan en baño maría á 50° c. de 2 á horas, y se enfrían por último con agua. La forma en que actúa el calor y el agua oxigenada lo hemos explicado ya, así que consideramos inútil repetirlo.

Creemos sí conveniente agregar que Budde aumenta un poco la cantidad de agua oxigenada para que quede un resto de esta substancia en la leche, como un medio de asegurar que el tratamiento ha sido suficiente.

Budde ha comprobado la eficacia de su método de esterilización sobre bacillus coli, tíficus, Koch, determinando primero la cantidad de H² O² que podía descomponer la leche destinada al tratamiento, agregando á esa leche cultivos puros de diferentes bacterias, y tratándola luego con la cantidad correspondiente de H² O². Después del tratamiento efectuó cultivos de esa leche sobre caldo y gelatina, inoculó en cerdos de Guinea, obteniendo como resultado que las bacterias se habían destruído completamente. Hizo también una prueba de conservación y encontró que la leche preparada el 29 de noviembre de 1902 no había sufrido alteración el 24 de enero de 1903.

Pidió después al Dr. Levín, que estudiase su método, y Levín lo estudió especialmente en su relación con la tuberculosis, exponiendo su opinión después de varios ensayos en las siguientes líneas:

«Los experimentos se han efectuado con leche infectada, parte con cultivos puros de B. Koch, parte con esputos ricos en los mismos bacillus. Esta leche infectada ha sido inyectada en la cavidad abdominal de cerdos de Guinea, antes y después de tratado por el fenómeno Budde.»

«La leche no tratada produjo en menos de dos semanas tuberculosis general, mientras que se comprobó que todos los bacillus presentes fueron completamente destruídos por el tratamiento con el método Budde, y que los animales alimentados con esta aumentaron en peso y no demostraron los más mínimos signos de cambios patológicos. Debo mencionar aquí que los animales inoculados hace un año, están aún vivos.»

Se ve pues que la acción del agua oxigenada es real, efectiva; nos lo comprueba la práctica que es el mejor juez á quien apelar en estos casos, y la práctica de hombres de ciencia que han luchado y han puesto todas sus energías en la resolución de este valioso problema.

En cuanto á la acción en el organismo de los niños, de la leche esterilizada por el agua oxigenada, podemos citar entre otras experiencias las practicadas por el doctor

Carl Lindemam, físico en el hospital de Helsingborg quien comunicó el resultado de sus experiencias practicadas sobre este punto al quinto Congreso Médico Internacional de Stokolmo en 1904.

Las experiencias las hizo sobre un número de niños elegidos entre los más pobres y descuidados, encontrándose muchos de ellos, al comenzar las experiencias, en el estado más lastimoso, habiendo vivido en los barrios más anti-higiénicos, sin la alimentación necesaria, presentando la mayoría fenómenos de disturbios digestivos y no pocos síntomas de raquitismo.

Empecé, dice, Lindemam, por administrarles leche «buddizada» y muy pronto comenzaron todos sin excepción á mejorar sus condiciones, desaparecieron inmediatamente los síntomas de enfermedad del estómago y conducto intestinal, y las madres todas convinieron en que sus hijos no eran reconocibles después de haber tomado el nuevo alimento; las criaturas no lloraban más y eran completamente felices.

Durante los seis meses que transcurrieron, ni una sola criatura sufrió del estómago ó de los intestinos, á pesar de que el verano fué muy caluroso y seco. «Usó también el Dr. Lindemam leche buddizada para los adultos con el mejor éxito, y en el informe al congreso terminó con estas palabras que son todo un himno de triunfo para el método de esterilización de la leche por el agua oxigenada: *de las experiencias efectuadas resulta probado que el método de buddización es perfectamente seguro y absolutamente innocuo y lo considero como el mejor que se conozca para la esterilización de la leche*». Esto en cuanto al de Budde.

El método de Lew, Dewacle, Vandeveld y Sugg, estudiado en 1906, consiste en emplear el agua oxigenada como esterilizante, destruyendo el exceso, por medio de tejidos ó líquidos orgánicos, que poseen propiedades catalíticas.

Las experiencias de estos autores se realizaron tomando por base el empleo del suero sanguíneo, cuyas propiedades catalíticas ó sean de disociación de agua oxigenada, son muy poderosas y con el siguiente procedimiento.

La leche á tratar, se transvasa en recipientes esterilizados y se le agrega 3 á 4 gramos de H^2O^2 bien pura por cada litro, se deja en reposo 3 á 8 días, y luego se le agrega el líquido catalítico, que en este caso constituiría suero de sangre en proporción de 1 á 2 gramos por litro de leche, produciéndose un fuerte desprendimiento de gas, originado por la descomposición del H^2O^2 .

Esta leche, según los autores citados, se mantenía inalterable aun después de una larga permanencia á la tempera-

tura de 37°, y si se la inoculaba con culturas de bacterias, la infección tenía lugar, lo que demostraba haber desaparecido el antiséptico.

Nos queda por ver el método de Munch y Römer.

Este procedimiento estudiado en 1906, constituye al parecer un perfeccionamiento del método de Budde, bajo el mismo sistema seguido por Lew, Vandevelde, etc., y consiste en ordeñar lo más asépticamente posible, recibiendo la leche sobre un recipiente en el cual se tiene previamente el H²O² en dosis de 3,3 c. c. de perhidrol de Merck al 30 % ó de 33 c. c. de H²O² de Koller al 3 %.

Se deja la leche en reposo 12 á 14 horas, tiempo en que obre el antiséptico, después se calienta la leche una hora á 52° para activar la acción bactericida del H²O², se deja la leche en reposo de 5 á 8 horas, y finalmente se agrega á cada litro de leche 3 á 4 gotas de una catalasa preparada por los autores, con el objeto de descomponer el exceso de agua oxigenada subsistente en la leche.

Estos son los métodos que más hablan y más nos dicen de la acción del H²O² en la esterilización de la leche. Del que nos vamos á ocupar en seguida, será del que hemos practicado nosotros, del que hemos seguido todas sus fases, sin perder un detalle, con el interés de hacer algo útil y de tratar de vencer algunas dificultades de los otros métodos, concerniente especialmente al tiempo de duración del tratamiento, que en el método estudiado por nosotros es relativamente corto y fácil.

Habiendo estudiado ya las diferentes acciones del agua oxigenada en la leche, vamos, pues, á apoyarnos en todo lo anteriormente dicho que está abonado por la práctica y que como en matemáticas son verdades que no necesitan más demostración. La acción es una é indivisible para todos los métodos, sólo se diferencian los medios y propender á que estos medios sean los más prácticos y útiles, salvando las grandes dificultades que en un país como el nuestro se presentan, á eso deben propender los esfuerzos de todos para el bien común.

El método que hemos experimentado consiste en preparar la leche, inyectarla á cerdos de Guinea en forma subcutánea, y observar las variaciones que experimentaren dichos cerdos.

Preparación de la leche:

En un balón de 3.000 c. c. de capacidad, colocamos 2.500 c. c. de leche que nos es traída al laboratorio y le agregamos una emulsión de bacillus Kock agitando vivamente.

Los bacillus estaban emulsionados en 10 c. c. más ó menos de suero fisiológico.

Agregamos los bacillus, dividimos la leche en dos partes, una de 500 c. c. que colocamos en un balón de un litro y los 2.000 c. c. restantes que dejábamos en su primitivo balón, sometiendo los dos balones á una temperatura de 45° á 52° al baño maría.

Al marcar el termómetro 50° en el balón de 2.000 c. c. le agregamos 20 c.c. de $H^2 O^2$ á 12 volúmenes más ó menos, correspondiente, 10 c. c. de $H^2 O^2$ por litro y someténdola nuevamente al calor por espacio de 30 minutos á contar desde el momento en que agregamos $H^2 O^2$ en las 4 primeras inoculaciones, y de una hora en las 3 últimas. En ambos casos los 500 c. c. que estaban sin agua oxigenada sufrieron el mismo calentamiento durante el máximo de tiempo, es decir, de 30 minutos en las 4 primeras inoculaciones y de 60 minutos en las dos últimas, y en todos los casos sirvió de *contralor*.

Cuando operamos con 30 minutos de calor, á los 20 minutos colocamos unos 500 c.c. de la leche con $H^2 O^2$ en un frasco esterilizado que rotulamos convenientemente especificando el tiempo y con la palabra «preparada» y á los 30 minutos otros 500 c.c. de la misma leche en otro frasco con las indicaciones correspondientes. En seguida colocamos los 500 c. c. de leche sin preparar en un tercer frasco, indicando el tiempo y agregando en el rótulo la palabra «sin preparar».

Cuando operamos, durante 60 minutos, sacamos 4 partes de 500 c. c. cada una, correspondiendo la primera á los 20 minutos, la segunda á los 30, la tercera á los 40 y la cuarta á los 60 minutos, teniendo las mismas precauciones de rotular indicando el tiempo y con la palabra «preparada».

Los 500 c. c. de leche sin preparar los colocamos en un quinto frasco con las mismas indicaciones de la leche sin preparar anterior.

Una vez distribuída la leche en los frascos, la sometemos á una centrifugadora eléctrica durante 4 á 5 minutos, dejamos en réposo unos 10 minutos, decantamos la parte superior, conservando la inferior en una capa de 4 centímetros de alto, más ó menos, para hacer las inoculaciones.

Como nos era difícil extraer la leche de los frascos por medio de la jeringas para inyectarla, hicimos uso de placas de Peyer esterilizadas, en las cuales vertimos un poco de la leche á inyectar y de ahí la extrajimos para inocularla á los cerdos de Guinea.

INOCULACIONES

Las hicimos en el abdomen y de forma subcutánea, previa asepsia de la región á inyectar. En las 4 primeras series inyectamos á cada chanchito 2 c.c. de leche y en las 2 últimas sólo 1 c. c.

Una vez hecha la inoculación colocamos los chanchitos en jaulas, separados unos de otros, rotuladas las jaulas y para mayor seguridad marcamos con colores diversos en la región más visible de su cuerpo.

Así quedaron, siguiéndose con ellos un buen régimen de alimentación y observándolos continuamente, hasta el 26 de marzo en que dimos por terminada la experiencia, haciendo la autopsia de aquellos que nos parecieron sospechosos y dejando los que no presentaban ningún signo de enfermedad.

Es de advertir que durante el tiempo transcurrido del 24 de agosto, fecha de la primera inoculación al 26 de marzo, murieron varios chanchitos como veremos por los cuadros que van á continuación, todos tuberculosos y todos correspondientes al chanchito contralor, como también que fueron inoculados con cantidad muy grande de bacillus.

He aquí los cuadros demostrativos de las inoculaciones.

EXPERIENCIA N° 1

Cobayos	Leche inoculada	Cantidad	Resultado	OBSERVACIONES
N° 1.....	Sin preparar.....	2 c. c.....	Murió.....	Tuberculoso á los 80 días.
N° 2.....	Preparada 20'.....	2 c. c.....	Vive.....	Sano.
N° 3.....	Preparada 30'.....	2 c. c.....	Vive.....	Sano.

EXPERIENCIA N° 2

Cobayos	Leche inoculada	Cantidad	Resultado	OBSERVACIONES
N° 1.....	Sin preparar.....	2 c. c.....	Murió.....	Tuberculoso á los 80 días.
N° 2.....	Preparada 20'.....	2 c. c.....	Murió.....	Tuberculoso á los 6 meses.
N° 3.....	Preparada 30'.....	2 c. c.....	Vive.....	Enflaquecido.

EXPERIENCIA N° 3

Cobayos	Leche inoculada	Cantidad	Resultado	OBSERVACIONES
N° 1.....	Sin preparar.....	2 c. c.....	Murió.....	Tuberculoso á los 5 meses.
N° 2.....	Preparada 20'.....	2 c. c.....	Vive.....	Enfermo (Tuberculosis).
N° 3.....	Preparada 30'.....	2 c. c.....	Vive.....	Enfermo (Tuberculosis).

EXPERIENCIA N° 4

Cobayos	Leche inoculada	Cantidad	Resultado	OBSERVACIONES
N° 1.....	Sin preparar.....	2 c. c.....	Murió.....	Tuberculoso á los 3 meses.
N° 2.....	Preparada 20'.....	2 c. c.....	Vive.....	Enfermo (tuberculoso).
N° 3.....	Preparada 30'.....	2 c. c.....	Vive.....	Enfermo (tuberculoso).

EXPERIENCIA N° 5

Cobayos	Leche inoculada	Cantidad	Resultado	OBSERVACIONES
N° 1.....	Sin preparar.....	1 c. c.....	Tuberculoso.....	Fué muerto para la autopsia á los 5 meses.
N° 2.....	Preparada 30'.....	1 c. c.....	Sano.....	» » » » » » »
N° 3.....	Pre. 30'+1 gota catalasa.....	1 c. c.....	Sano.....	» » » » » » »
N° 4.....	Preparada 60'.....	1 c. c.....	Sano.....	» » » » » » »

EXPERIENCIA N° 6

Cobayos	Leche inoculada	Cantidad	Resultado	OBSERVACIONES
N° 1.....	Sin preparar.....	1 c. c.....	Murió.....	Tuberculoso á los 15 días.
N° 2.....	Preparada 20'.....	1 c. c.....	Vive.....	(1)
N° 3.....	Preparada 30'.....	1 c. c.....	Vive.....	
N° 4.....	Preparada 40'.....	1 c. c.....	Vive.....	
N° 5.....	Preparada 60'.....	1 c. c.....	Vive.....	

(1) A los dos meses los chanchitos Nos. 2, 3, 4 y 5 no presentan ningún síntoma de tuberculosis; se hallan sanos.

CONCLUSIÓN

Sin abrir opinión sobre la inocuidad para el organismo humano de la leche tratada por el método expuesto, creemos que estas experiencias revelan que él ejerce una acción esterilizadora eficaz sobre los bacilos de la tuberculosis en la leche.
