

todavía en un estado relativamente próspero. Por lo tanto, y para concluir, el modo inoculatorio que preconizamos y que consiste en llevar por medio de cateterismo y sin ningún traumatismo el virus tuberculoso a la intimidad del parénquima pulmonar y a inyectarlo allí profundamente, este procedimiento *vale* para los grandes como para los pequeños mamíferos. Representa, recordémoslo aquí, el método de elección superior a cualquier otro y el único impecable (método al cual es extraño que no se haya recurrido antes) cuando se trata de crear una tuberculosis tórpida y evolutiva a la vez de focos estrictamente localizados al pulmón y ganglios anejos y condenados, como en el hombre, a la fusión caseosa. Desde los puntos de vista clínico, serológico, anatomo-patológico y hasta terapéutico, este método abre, sin disputa, horizontes hasta ahora vedados a la experimentación.

## El control sanitario de la leche

POR

José Vidal Munné

VETERINARIO

TÉCNICO DEL LABORATORIO BACTERIOLÓGICO MUNICIPAL DE BARCELONA

(RECIBIDO EL 20 DE ABRIL)

En nuestro país, poca cosa, o casi nada, se ha realizado para conseguir que la leche que va al consumo reúna las condiciones de verdadero alimento higiénico. La preocupación constante de los técnicos y de los legisladores, ha sido la vigilancia de los fraudes en la proporción de sus elementos constitutivos y la presencia de productos antisépticos y conservadores. Esto es importante, pero no es todo lo que debe exigirse del comerciante de leche. Puede este líquido contener todas sus características químicas y considerarse como perfecto, y, en cambio, ser un semillero enorme de microbios. En estas condiciones una leche es mucho más nociva que si fuera desnatada o aguada.

Una leche pobre en grasa, contendrá menos calorías, evidentemente, pero, si no es contaminada, no producirá intoxicaciones ni infecciones. El terror de la infancia es una alimentación infectada que ocasiona desórdenes intestinales, que culminan en las diarreas que tantas víctimas causan en la población infantil. Consultad las estadísticas de mortalidad de la primera infancia y veréis el azote que para la humanidad supone esta plaga terrible. Comparad las de diferentes pueblos y comprobaréis un hecho vergonzoso para nosotros. España es una de las naciones donde mueren más niños de diarreas o enteritis infecciosas.

Naturalmente que no todas estas víctimas hay que atribuir las a la leche en malas condiciones. Otros factores de orden higiénico son también responsables. Pero hay datos de un valor demostrativo tan grande, que es imposible negar que la leche es el vehículo más importante de tan mortífera enfermedad.

En las Casas de Maternidad, donde se ha impuesto un control higiénico verídico a la leche que consumen los niños, han visto descender la mortalidad por infecciones de origen digestivo a una cifra insignificante. Esto prueba el imen-



so valor que para la profilaxis de las enfermedades de los niños, tiene la leche de lactancia severa de su alimento predilecto.

Y yo entiendo que, en esta actividad de nuestra profesión, es donde hemos de poner nuestros entusiasmos y demostrar que somos unos vigilantes, celosos y capacitados, de cuanto pueda alterar a la salud de la humanidad. Nuestra consideración se acrecentará y nuestra conciencia experimentará el placer de contribuir de una manera eficaz en la obra enorme de la higiene social.

En España, nada se hace prácticamente en este sentido. El Municipio de Barcelona aprobó un Reglamento de Policía de leche, y tuvimos el honor de ser encargados de estudiar todo cuanto afecta al establecimiento de un control bacteriológico de las leches.

En estas líneas vamos a exponer el criterio que nos hemos formado de la cuestión, a base de muchos meses de trabajos de comprobación de métodos y estudio meditado de los documentos científicos que hemos podido consultar.

#### LAS FUENTES DE INFECCIÓN DE LA LECHE

No solamente el animal productor puede contaminar la leche por padecer alguna enfermedad infecciosa transmisible al hombre, sino que el cuidado de las diferentes operaciones a que se somete este líquido antes de llegar al consumidor, son causas de infección.

De sobra es sabido que una vaca tuberculosa, y especialmente con lesiones en la ubre, elimina grandes cantidades de bacilos de Koch con la leche. El valor patógeno del bacilo tuberculoso bovino, a pesar de las discusiones que ha provocado, es hoy día admitido por todos los hombres de ciencia. Gran parte de las tuberculosis intestinales de los niños se ha demostrado que tenían origen bovino.

Esto sólo basta para excluir de la producción láctea a las vacas con tuberculosis mamarias principalmente. Decimos principalmente, porque las otras formas, aunque en determinados momentos eliminan por la leche bacilo de Koch, no es tan frecuente. No obstante, como veremos más adelante, una leche que ha de consumirse cruda para la alimentación de niños y enfermos, de ninguna manera debe proceder de animales con reacción positiva a la tuberculina, a pesar de no encontrarse lesiones aparentes de la enfermedad. La leche de estas vacas no debe librarse al público sin una verdadera esterilización.

Las mamitis estreptocócicas son peligrosas por las bacterias que contienen y por las toxinas elaboradas por éstas. Su diagnóstico no es difícil y, por lo mismo, es posible excluirlas del consumo.

La fiebre aftosa, si bien no está muy claro su poder difusivo a la especie humana, los casos de aftas en la boca de los niños dan derecho a suponer que entraña algún peligro el consumo de leche de reses con esta enfermedad, por más que ella misma se encarga de inhibirse, ya que la agalaxia es un síntoma que no acostumbra a faltar en su evolución.

La actinomicosis, aunque rara, no deja de presentarse en el hombre, y acaso la etiología habría que buscarla en la leche.

El contagio de la fiebre de Malta de las cabras, es ya un conocimiento clásico, que ningún biólogo ignora. Pero desgraciadamente no se ha podido encontrar un procedimiento fácil y racional de profilaxis. Únicamente la perfecta pasteurización de la leche ofrece las garantías necesarias.

Actualmente se discute si el aborto contagioso de las vacas es causa también de fiebre ondulante. Los trabajos de Evans, Burnet, Tapia Martín y los nuestros, y los casos de fiebre de Malta en el hombre descritos por Ficat y Alessandrini y cuyo origen únicamente pudo ser bovino, ponen en duda la pretendida defi-



rencia entre el micrococo melitensis y el bacilo de Bang. En este caso las medidas profilácticas preconizadas para la leche de cabra, habrá que hacerlas extensivas a la leche de vaca, en lo concerniente a la fiebre de Malta.

No terminan aquí las contingencias de infección de la leche. Este líquido puede contener gérmenes de la difteria, la escarlatina y la tifoidea, como lo han demostrado diferentes autores. Los convalecientes y portadores de gérmenes deben excluirse de una manera absoluta de todas las manipulaciones de que es objeto la leche. Deben incluirse aquí los individuos atacados de enfermedades contagiosas crónicas (tuberculosis, etc.) que pueden ser perfectos contaminadores de la leche.

Las ubres sucias, los movimientos de la cola, los utensilios deficientemente limpios, las manos del ordeñador, etc., son otros tantos factores que contribuyen a aumentar el contenido bacteriano de la leche. Cuando ésta llega al consumidor, contiene una cantidad enorme de bacterias que si no son específicamente patógenas, alteran la leche, elaboran toxinas y al morir liberan endotoxinas. Todo este conjunto hace de la leche un líquido que debiendo ser higiénico se convierte en tóxico, cuando no infectante.

Para evitar el contagio existe un medio. Esterilizar la leche, antes de su consumo. Pero, ¿satisface completamente esta solución? De ninguna manera. La esterilización a baja temperatura deja muchos microbios con vida y a todos los esporos.

La esterilización a más de 75°, si bien es más eficaz, respeta los esporos, destruye las vitaminas y fermentos y modifica considerablemente la constitución coloidal de los componentes de la leche. Por lo tanto, el problema queda en pie. O leche impura, o leche profundamente modificada.

Los esfuerzos de los higienistas modernos, se encaminan a conseguir una leche que pueda ser consumida cruda de una manera perfectamente exenta de peligro. El ideal sería obtener una leche aséptica, pero esto es imposible prácticamente. En cambio, no es una cosa insuperable la obtención de leche de vacas sanas, recogida con el mayor cuidado posible, envasada en utensilios pulcros y transportada a bajas temperaturas. De esta manera es fácil conseguir una leche perfectamente higiénica, cuyo contenido en bacterias no exceda de 10.000 por c.c.

Claro que para llegar a este desideratum, es preciso un conjunto de condiciones que todavía no son asequibles en nuestro pueblo. Lo fundamental es una cultura sanitaria que no conocen, ni mucho menos sienten, los que comercian con la leche. Luego una legislación eficaz y técnicos y autoridades con el sentido de la responsabilidad que supone tan alta misión.

Esto no quiere decir que seamos pesimistas o consideremos una utopía la implantación de este servicio. Muy al contrario, tenemos una fé grande en que este ideal que ahora parece un sueño, no tardará mucho en ser una realidad, si se unen la buena voluntad de los que mandan y el entusiasmo de los técnicos. Es una cruzada noble, a la que todos debemos poner nuestros esfuerzos.

#### DE LAS CATEGORÍAS DE LECHE

El municipio de Barcelona, en su reglamento recientemente aprobado, clasifica las leches de la siguiente manera:

«Grado A. Leche especial cruda, o sea la leche procedente del ordeño completo de animales sanos según dictamen bimensual del veterinario, manipulada por empleados sanos, según dictamen médico, y cuyo dosado bacteriano no exceda de 10.000 bacterias vivas por c. c. al llegar al consumidor.»

«La leche obtenida en esas condiciones deberá ser pasteurizada si no exce-



de el dosado de gérmenes de 200.000 por c. c. En el momento de ser expedida, el dosado de gérmenes vivos no excederá de 10.000 por c. c.»

«Grado B. Leche obtenida en parecidas condiciones que la anterior, con visita por lo menos mensual del veterinario inspector y cuyo dosado bacteridiano no exceda de 1.000.000 de bacterias por c. c. y cuyo dosado, al llegar al consumidor, no pase de 50.000 bacterias por c. c. La leche de esta clase ha de ser pasteurizada.»

«Grado C. Leche obtenida en idénticas condiciones de sanidad de operarios y hembras lecheras, pero que por deficiencias en la instalación se produce con un dosado de bacterias superior a 1.000.000 por c. c. Esta leche debe ser pasteurizada o hervida durante un minimum de cinco minutos, y al llegar al consumidor no contener más de 50.000 bacterias vivas por c. c.»

Fácilmente se comprende que esta legislación es incompleta. Está inspirada en las ordenanzas que rigen en Inglaterra.

En aquella nación se precisan con todo género de detalles las condiciones de salud de las vacas, insistiendo en la reacción de la tuberculina, condición fundamental que no puede olvidarse en toda producción de leche higiénica. El número de bacterias que se tolera en los países donde este servicio está en vigor, es mucho menor que las máximas de nuestro reglamento, pero hay que tener en cuenta que ni los locales, ni el material, ni el personal, están en condiciones de conseguir un producto perfectamente limpio. Progresivamente se podría bajar la cifra, a medida que los lecheros fueran perfeccionando su técnica.

Por otra parte, la clasificación de la leche, debe ser, de momento, voluntaria, y únicamente se extendería el diploma pertinente, cuando la inspección del personal, ganado, locales y utensilios y el repetido control de la leche, diera con relativa constancia el dosage microbiano indicado.

#### LA TÉCNICA DEL CONTROL MICROBIANO

Lo primero es recoger las muestras necesarias, en buenas condiciones. Es preciso tener en cuenta que la leche es un excelente medio de cultivo, que juntamente con la temperatura, hacen que los microbios aumenten de una manera considerable.

En consecuencia, hay que colocar la leche recogida en una nevera portátil y remitirla rápidamente al Laboratorio para su dosage.

Para recoger la leche hay que emplear pipetas de vidrio, estériles, de un largo suficiente para llegar al fondo de los botes. Después de agitarla se introduce la pipeta abierta a fin de que recoja leche de todas las capas, pues los microbios tienen preferencias de profundidad, según sus afinidades aerobias o anaerobias y nutritivas. Una vez llegado al fondo se tapa con el dedo el orificio superior y se introduce la leche con un recipiente de cristal, esterilizado también. Puede ser un tubo de ensayo corriente o mejor un tubo especial con tapón esmerilado a fin de realizar una agitación más intensa. Colocada en la nevera portátil, es llevada al laboratorio.

¿Qué podemos hacer con esta leche? El ensayo más fácil es la reductasimetría. Como es sabido consiste en añadir a una cantidad fija de leche, otra de una solución de azul de metileno, y comprobar el tiempo que tarde en decolorarse. Este está en razón directa del número de microbios que contenga.

¿Por qué mecanismo se realiza esta reducción? Barthel ha propuesto la siguiente teoría, que ha sido comprobada por Virtanen.

La reducción obedece al siguiente mecanismo: 1.º Absorción del oxígeno por las bacterias, 2.º Reducción real del azul, por determinados elementos de la leche, por encontrarse sin oxígeno. Esta reducción es rapidísima y, por lo tanto,



no es posible que sea influenciada por otro fenómeno de adsorción como ha supuesto Eichwald.

Los resultados no se modifican añadiendo a la leche electrolitos (ácidos y sales) a fin de cambiar el grado de dispersión de la caseína; o bien añadiendo agua a fin de provocar diferentes proporciones entre los coloides y el disolvente.

Se ha propuesto una clasificación de la leche a base del tiempo de decoloración. La escala siguiente es de Orla-Tensen-Kufferath.

Menos de 15 minutos.....	muy mala
De 15 minutos a 2 horas.....	mala
De 2 a 6 horas.....	regular
Más de 6 horas.....	buenas
24 horas.....	muy buenas
De 5 a 6 días.....	mejorable

Para estos resultados, emplean la técnica que sigue:

20 c. c. de leche son introducidos en un tubo de ensayo estéril, más 5 gotas de la solución de azul preparada de esta manera:

Azul de metileno.....	1 gr.
Alcohol absoluto.....	20 c. c.
Agua destilada.....	29 c. c.

Colóquense los tubos a 45°.

Este procedimiento ofrece un inconveniente. Es el largo tiempo de observación que requiere.

Puede modificarse disminuyendo la cantidad de azul de metileno que se pone en contacto con la leche, pues como han observado Hastings, Davenport y Wright, la dilución mayor del metileno no altera los resultados.

Nosotros, por nuestra parte, hemos estudiado el tiempo de decoloración a base de una gota de la solución de Orla-Tensen, haciendo al mismo tiempo dosajes por siembra en placas.

Los resultados pueden resumirse de la siguiente manera:

+ de 12 horas.....	gérmenes por c. c.	30.000
De 8 a 12 ».....	» »	200.000
De 6 a 8 ».....	» »	500.000
De 3 a 6 ».....	» »	1.000.000
De 1 a 3 ».....	» »	3.000.000
De 1/2 a 1 hora.....	» »	7.000.000
Menos de 1/2 hora.....	» »	+ de 10.000.000

Estas cifras no pueden tener, de ningún modo, un valor definitivo. Son un término medio. La leche la colocamos a 37°.

La prueba de la reductasa, proporciona únicamente un índice aproximado, pues hay leches que al contage dan una cifra elevadísima y en cambio tardan mucho en decolorar el azul. Las distintas necesidades nutritivas de las bacterias, forzosamente han de influir en el tiempo de reducción.

Por lo tanto, cuando deseamos hacer una dosada más seguro, hay que recurrir al contage directo o a la siembra en placas.

El contage directo se realiza al microscopio con preparaciones de leche, fijadas y teñidas.

Existen dos procedimientos generalizados, el de Breed y el de Skar.

El fundamento de las técnicas de contage directo consiste en observar al microscopio una película de leche extendida en una superficie determinada, medi-



da exactamente con una pipeta especial y con una combinación óptica determinada de antemano. Para la técnica de Breed puede seguirse como indican Calmette, Nègre y Boquet:

«Extender 0'01 c. c. de leche sobre un porta en un cuadro de 1 c. de lado. Secar al aire por agitación o mejor colocándole a una estufa y fijando por inmersión durante algunos minutos en alcohol metílico absoluto. Se colora con una solución acuosa de azul de metileno. Se cuentan las bacterias al microscopio con objetivo de inmersión. Es preciso combinar objetivo y ocular de manera que el diámetro del campo microscópico sea exactamente de 0'0016 cm., correspondiendo a una superficie de 0'005 cm<sup>2</sup>. Cada campo microscópico representa  $\frac{2}{500.000}$  de cm<sup>3</sup> de la muestra de leche. Se cuentan las bacterias de 8 ó 10 campos y se toma el promedio, que es suficiente multiplicar por 500.000, para obtener el número de microbios contenidos en un cm<sup>3</sup> de leche».

Para el procedimiento de Skar, se opera de la siguiente manera:

Se mezclan 5 c. c. de leche y 0'2 c. c. de azul de metileno fenicado. Mantener 5-10 minutos a 70°. Tomar  $\frac{1}{10}$  c. c. y extender regularmente en un espacio de  $\frac{20}{21}$  mm., grabado en un porta. Secar y examinar con objetivo de inmersión  $\frac{1}{12}$  y ocular Skar. Este contiene una placa sobre la cual son grabados dos cuadros y un círculo concéntrico. Por medio de un micrómetro objetivo se gradúa el tubo del microscopio hasta obtener un lado del cuadrado mayor de 50 micras.

En estas condiciones, el círculo equivale a  $\frac{1}{10}$  de mm<sup>2</sup>, el cuadro mayor  $\frac{1}{100}$  de m m<sup>2</sup> y el cuadro menor  $\frac{1}{1000}$  de mm<sup>2</sup>.

1 microbio al cuadro pequeño, equivale a 100 millones por cm<sup>3</sup>

1	>	>	>	grande	>	10	>
1	>	>	>	círculo	>	1	>

Se cuentan unos 20 campos y se toma el promedio.

La técnica de Breed es más sencilla y únicamente se necesita un micrómetro objetivo y pipetas calibrada exclusivamente a 0'01 c. c.

Para la tinción de las preparaciones, recomendamos la siguiente técnica que da preparaciones más limpias, pues elimina todo vestigio de grasa.

Secado a la estufa a 37°.

- 1.º Fijar en alcohol-éter unos segundos.
- 2.º Lavar en xilol unos segundos.
- 3.º Lavar de nuevo en alcohol absoluto.
- 4.º Lavar en agua, y
- 5.º Teñir por la tiónina fenicada de Nicolle, un minuto.

Lavar en agua abundantemente y secar con papel de filtro.

Por este procedimiento se puede hacer un dosado de bacterias de una leche antes de 20 minutos. En la práctica da buenos resultados, una vez se tiene la habilidad de hacer las extensiones de leche con uniformidad. Para ello no se necesita la instalación de un laboratorio complicado.

A pesar de su relativa simplicidad tiene un gran valor para determinar el grado de infección a que llegó una leche pasteurizada o esterilizada. Más claro. En las siembras por placas, como es natural, únicamente comprobamos las bacterias vivas y no en su totalidad, pues algunas especies no llegan a germinar lo suficiente para constituir una colonia visible macroscópicamente. Por lo tanto, es posible darse el caso de una leche que antes de sufrir la acción del calor, contuviera una cifra muy elevada de microbios, y juzgando por las siembras la consideremos buena cuando en realidad es perfectamente sucia, pues no es otra cosa que una emulsión bacteriana, muerta por el calor.



En leches crudas y de alta categoría higiénica, las siembras dan resultados prácticamente exactos, pero en las inferiores es preciso el conteo directo.

Otra cosa interesante hay que advertir respecto a los resultados que se obtienen comparativamente del examen directo y de la prueba por siembras. La numeración directa, siempre da una cifra mayor, porque además del número de microbios que no forman colonias, hay que añadir las agrupaciones de estafilococos y sarcinas, y las a veces interminables cadenas de estreptococos, que, por siembra, las contamos como si fuera un sólo germen y por examen directo pueden valer algunas docenas. Por este motivo es de una importancia capital la agitación perfecta de la leche a examinar.

#### LAS SIEMBRAS EN PLACAS

Llegada la leche lo más pronto posible al Laboratorio, se procederá rápidamente a las manipulaciones necesarias para hacer las siembras.

Se precisa tener ya preparado el siguiente material:

- a) Placas de Petri corrientes, esterilizadas.
- b) Tubos con 10 cc. de agua, esterilizados.
- c) Pipetas de 1 cc. divididas en décimas, estériles también.
- d) Medio de cultivo apropiado.

Respecto a las placas, tubos y pipetas poca cosa puede decirse. Son útiles tan corrientes en todos los Laboratorios, que todo el mundo les conoce y sabe perfectamente cómo se emplean y esterilizan.

El medio de cultivo ya tiene un interés mucho mayor y no será inútil que que detallemos su técnica de obtención.

En general hay que tener en cuenta que la composición del medio de cultivo modifica grandemente los resultados que se obtengan. Por lo tanto, una vez se adopte una técnica, es preciso seguirla con toda escrupulosidad si se quiere que todos los resultados sean comparables.

Tanto es así que en los Estados Unidos de América, se han unificado, *estandarizado*, los métodos de análisis detallando de una manera perfecta el procedimiento de preparación del agar.

Algunos emplean agar ordinario, preparado con extracto de carne, otros con agua de carne, leche, lactosa, leche desecada, etc.

Suple-Flanigan y Bolling-George, que se han ocupado de este asunto, convienen, como es lógico, que los medios a base de leche o sus derivados, dan un número mayor de colonias que el agar ordinario, llegando a proporciones de 100 a 117.

No queremos recomendar fórmula alguna porque creemos que el éxito consiste en la uniformidad de la preparación.

Pero hay unas condiciones que no pueden ser olvidadas: filtración, consistencia y reacción.

Aunque supone una pequeña molestia, el agar debe ser siempre perfectamente límpido, pues no hay que olvidar que las colonias microbianas se presentan muchas veces con el aspecto de impurezas, que de no ser el medio perfectamente transparente podríamos fácilmente confundirlas. Cuando no se dispone de embudos especiales, la filtración del agar puede llevarse a cabo en el interior de un autoclave, con la llama suficiente para mantener una ligera ebullición del agua del fondo del mismo.

El agar debe ser de una consistencia mínima. Las condiciones físicas del medio influyen también en el crecimiento de los microbios. Por lo tanto, hay que procurar que la proporción del agar no sea superior al 2 por 100. Los americanos recomiendan el 1'5.



Acaso el factor más importante en la preparación del medio de cultivo es la determinación de su concentración en pH.

La leche tiene, en general, una reacción ligeramente ácida cuando es pululada por sus gérmenes saprofitos, reacción que llega a un grado mucho mayor de acidez, en cuyo caso se coagula espontáneamente. Por este motivo hay que poner el medio de cultivo en las condiciones más parecidas a la vida normal de las bacterias.

La reacción óptima está entre pH 6'5 y 6'6, pero los límites 6'2-7'0, son perfectamente aceptables.

Para determinar la reacción pueden usarse dos métodos: el electrométrico y el colorimétrico.

El primero comporta un aparato complicado y costoso, cuyo manejo no es fácil, por lo cual no es el más aconsejable.

El colorimétrico es de aplicación sencilla y hoy día corriente en todos los laboratorios.

El indicador que se ajusta mejor a las necesidades del caso presente es el azul de bromo timol, cuya zona útil en los medios de color amarillo es de pH = 6 a 7'6.

Puede también usarse el púrpura de bromocresol. Zona útil de pH = 5'4-6'6.

La preparación de los reactivos y la técnica de uso, se encuentra en todas las obras modernas de Bacteriología, por cuyo motivo nos creemos excusados de detallar su manejo.

*Manera de hacer las siembras.*—La leche no puede ser sembrada íntegra porque el número de gérmenes que contiene es tan grande que sería difícil contar las colonias que aparecían en las placas.

Se acostumbra a hacer diferentes diluciones. Nosotros empleamos las tres siguientes: 1/100, 1/10.000, 1/1.000.000. Se agita perfectamente el tubo o frasco que contiene la leche y con una pipeta estéril se toma 0'1 c. c., que se introduce en un tubo que contiene 10 c. c. de agua estéril. Se agita fuertemente y con otra pipeta se toma 0'1 c. c., para introducirlo en otro tubo con 10 c. c. de agua. 0'1 de este segundo tubo, después de bien agitado, es introducido en otro tubo con 10 c. c. de agua. Así se obtienen las tres diluciones antes mencionadas.

Con una pipeta estéril se toma 1 c. c. de la dilución núm. 3 y se coloca en la placa de Petri correspondiente. Entonces se vacía el tubo de agar que tenemos fundido y conservado líquido a 45°, en la placa, procurando mezclarlo bien con la dilución de leche.

Con la misma pipeta tomamos 1 c. c. de la dilución núm. 2 y hacemos exactamente igual, repitiendo lo mismo con la dilución núm. 1.

Se deja solidificar y se colocan las placas a la estufa a 37°, hasta pasadas 48 horas, en que procederemos a contar las colonias visibles a simple vista.

Entonces basta multiplicar las colonias observadas en cada placa por el título de la dilución y tendremos el número de gérmenes vivos contenidos en 1 c. c. de leche.

Corrientemente la placa al 1 por 100 es imposible de contar, tal es el número de microbios que han germinado.

Se considera como prácticamente aceptable, la que resulta del promedio del conteo de las dos o tres placas correspondientes.

Modernamente se ha propuesto investigar la contaminación de una leche por medio de la valoración de la concentración en iones de hidrógeno.

Este método se funda en que la mayoría de gérmenes determinan una acidez notable en la leche, hasta el extremo de ocasionar su coagulación. Situados en



este terreno entendemos que a mayor acidez, corresponde un grado de infección más acentuado.

Los investigadores anglo-sajones, han comprobado pacientemente el valor de esta técnica, conviniendo en general, en que un índice bajo de pH, supone siempre un tenor bacteriano considerable. Pero no dejan de reconocer que puede darse el caso de una germinación abundante de microbios que no acidifiquen la lactosa y en este caso la indicación de los pH es falsa.

De todos modos, es un procedimiento sencillo y práctico que importa tener en cuenta a los que quieran dedicarse a estos estudios.

El método de Cooledge modificado por Schultz, Marx y Beaver, consiste en tomar 1 c. c. de leche que se introduce en un saco de colodión contenido dentro de un tubo con una solución neutra. A los cinco minutos la dialisis ha sido realizada. Entonces se saca el colodión y se pone una cantidad fija de indicador. Se compara el color con la escala valorada y se anota a qué concentración corresponde. Esta es la de la leche en cuestión.

Los indicadores a emplear son los ya indicados al tratar de la preparación del medio de cultivo.

La escala se prepara por medio de soluciones valoradas proporcionales de fosfato disódico ( $\text{Po}^4 \text{Na}^2 \text{H} + 2 \text{H}_2\text{O}$ ) y fosfato monopotásico ( $\text{Po}^4 \text{H K}^2$ ).

Los que dispongan de un indicador electrométrico pueden servirse de él, obteniéndose entonces resultados más precisos.

#### EL TÍTULO COLI-BACILAR

Este bacilo, profusamente extendido en la naturaleza, puede adquirir en determinadas circunstancias, una virulencia tal que le haga peligroso para el hombre.

Así como en las aguas se mide su potabilidad biológica por el índice coli-bacilar, en una buena organización de leche higiénica, es indispensable vigilar este factor de contaminación. Además, es importante porque se trata de un germen que acidifica y coagula la leche.

El reglamento inglés de leches, dispone al precisar las condiciones de la leche, entre otras cosas interesantes, lo siguiente:

*Grado A Certified.*—Ningún bacilo coli en una décima de centímetro cúbico de leche.

La investigación del coli puede efectuarse por los distintos procedimientos recomendados para el agua. Pero el más fácil, es la siembra de tubos de caldo lactosado con cámara de fermentación, con leche en distintas proporciones, pura o diluida, según se sospeche de una gran contaminación o de una buena leche.

El tubo o tubos fermentados, indicarán el número aproximado de bacilos coli que contenía la leche. Si empezamos las siembras por una gota y sólo comienzan a fermentar a partir del tubo que contenía diez gotas, podemos convenir que la leche de referencia es muy poco contaminada por este germen, pues prácticamente contiene un coli por 0,5 c. c. Si germinan todos y producen gas, es muy mala, pues contiene más de un coli por 0,05 c. c.

#### LA PRUEBA DE LOS ESPORÓGENOS

Como índice del poco cuidado con que es recogida la leche, la investigación de los gérmenes esporulados es un buen indicador. En este grupo se encuentra generalmente el *b. enteriditis sporogens*, cuya presencia es habitual en las deyecciones de la vaca.

La técnica de esta prueba consiste en introducir 20 c. c. de leche en tubos estériles, calentarla diez minutos a 80° a fin de matar todas las formas vegetati-



vas, añadir una capa de parafina fundida, dejar enfriar y colocar a 37° durante veinticuatro horas.

En este tiempo suele producirse una germinación suficiente para provocar la coagulación de la caseína y formación de gas para levantar la capa de parafina.

Con el proceder de Sevrage se utilizan diez tubos con una cantidad fija de leche. Con el de Weinzierl, se emplean 5, 10, 15 c. c. de leche.

La investigación específica de los gérmenes patógenos.

En determinadas ocasiones, es interesante comprobar la presencia de distintos microbios, especialmente el bacilo de Koch, el del aborto contagioso y los estreptococos de la mamitis.

#### EL BACILO TUBERCULOSO

Su investigación directa al microscopio da por lo común resultados inciertos por la escasa cantidad que puede contener la leche. Las preparaciones pueden hacerse del centrifugado corriente de una buena cantidad de líquido a examinar. Bien entendido en un porta se fija y se tiñe por la técnica de Ziehl-Nelsen.

Modernamente, Douglas Meauwell ha dado un método de concentración que consiste en lo siguiente:

En un tubo de centrifuga se mezclan 10 c. c. de la leche sospechosa y 0,5 c. c. de una solución de tripsina. Se coloca el tubo tres horas a 56° o seis horas a 37°. Una vez enfriado, se añaden 5 c. c. de éter. Se agita fuertemente y se centrifuga veinte minutos.

De las tres capas que se forman, la superior contiene grasa disuelta y éter, la inferior un líquido claro y entre estas dos un disco gelatinoso que contiene los bacilos de Koch.

Pero el procedimiento más seguro es inocular una buena cantidad de centrifugado, previamente homogeneizado por cualquier técnica, debajo de la piel de un cobayo. Por pocos bacilos de Koch que contenga, este animal enfermará y comprobaremos ciertamente la existencia de este microbio.

#### EL BACILO DE BANG

Sea para un fin higiénico o diagnóstico, la mejor manera de reconocer este germen, es inocular intraperitoneal o subcutáneamente, 5 c. c. de leche sospechosa a un cobayo.

El bacilo de Bang y el *m. melitensis*, producen en este animal una misma enfermedad de tipo crónico, que evoluciona con infartos ganglionares, perfectamente diagnosticables.

La siembra de bazo, hígado y ganglios, da siempre cultivos puros de estos gérmenes. Es el único procedimiento de aislarle. Puede encontrarse en estos órganos, incluso después de un año de la inoculación.

#### LOS ESTREPTOCOCOS DE LA MAMITIS

En las preparaciones directas de leche pueden observarse estos microbios, pero es muy difícil asegurar sin son gérmenes banales o procedentes de alteraciones patológicas de la ubre.

Hay que buscar su presencia en el sedimento de los tubos de Trommsdorff. Se extiende en un porta como si fuera sangre, se colorea por la tionina o el azul de Loeffler.

En las mamitis observamos fibrina, leucocitos, células epiteliales y microbios.

El hecho de encontrar los elementos indicados, no supone, necesariamente,



que se trata de leche procedente de reses enfermas. Es la cantidad de los mismos lo que más debe inclinarnos a la sospecha. El encontrar estreptococos intracelulares o fagocitados pueden reforzar el diagnóstico. Además, el tamaño de los cocos puede ser un buen indicador; los elementos de pequeño diámetro son, generalmente, patógenos. El hecho de encontrar microbios fagocitados no debe disponernos de una manera absoluta a admitir que se trata de leche enferma. Es preciso no olvidar que los leucocitos siguen viviendo después de su salida del organismo, y, por lo tanto, conservar la facultad de englobar microbios.

Por lo tanto, ha de ser la suma de todos los datos indicados lo que debe orientarnos al formular una afirmación concreta.

#### MÉTODOS SENCILLOS

Hasta aquí hemos pasado revista a los procedimientos que podríamos llamar de alta precisión. Estos métodos, en general, requieren instalaciones complicadas y costosas y un mecanismo técnico que no siempre es fácil de adquirir. No por ello se debe abandonar la idea de intentar algo en pro de la higienización de la leche. El método de la reductasimetría es bien fácil y no precisa gran cosa para ponerle en práctica. Lo interesante es dar la sensación de que se hace algo serio y con las suficientes garantías de uniformidad.

Además del procedimiento anteriormente citado, pueden emplearse otros tres de fácil aplicación y excelentes resultados: la investigación de leucocitos, la prueba del alcohol-alizarina y el control del sedimento.

La investigación de los leucocitos puede realizarse en cualquier laboratorio en que se disponga de una centrífuga Gerbers. Únicamente hay que procurarse los tubos de Kufferath, que son una modificación de los clásicos de Trommsdorff. Tienen la ventaja de poderse limpiar fácilmente y adaptarse a las centrífugas indicadas.

En la figura adjunta, que representa una sección en tamaño natural, pueden observarse las características del mismo.

Una buena leche no debe contener más de 1 por 1.000 de leucocitos e impurezas. Las cifras 1-2 marcan estas proporciones. Para su uso se toman 20 c. c. de leche y se centrifugan durante tres a cuatro minutos y se observa el nivel del depósito o sedimento. Una leche, cuyo sedimento sea superior a uno, debe considerarse sospechosa y examinar al microscopio el carácter de éste, para cerciorarse si se trata de leucocitos o de impurezas simplemente.

#### EL ENSAYO DEL ALCOHOL-ALIZARINA

La técnica de comprobar si una leche se coagula por el alcohol de 68° es de las antiguas. Si bien no es de una gran precisión, indica con relativa facilidad el grado de acidez a que ha llegado una leche, que hace no resista la ebullición sin coagularse. Este procedimiento adquiere precisión añadiéndole alizarina. Para ello, basta disolver en un litro de alcohol de 68° 1'5 ó 2 gramos de alizarina en polvo, agitar en reposo, para luego de doce horas filtrar.





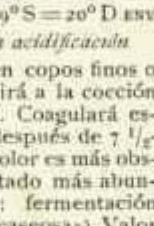

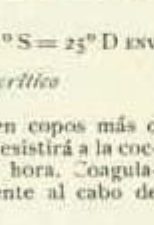

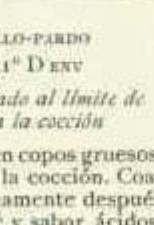

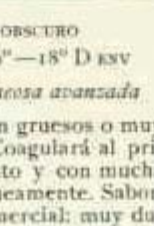




CUADRO DE LOS COLORES OBTENIDOS CON LA SOLUCIÓN ALCOHÓLICA DE ALIZARINA, PARA APRECIAR LA NATURALEZA DE LA ALTERACIÓN Y EL GRADO DE ACIDEZ APROXIMADO DE UNA LECHE (SEGUN G. MORRIS)

$S$  indica la acidez en grados Soxhlet y  $D$  la acidez en grados Dornic, estando la leche conservada a la temperatura de  $20^{\circ}$ .

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN Y MODO DE EMPLEO: Obtener, por dilución en el agua, el alcohol, neutro de  $68^{\circ}$ . Verter en un litro de alcohol de  $68^{\circ}$ , 1,5-2 gr. de alizarina en polvo, agitar y dejar reposar. Después de 6-12 horas, filtrar. Si el filtrado no tiene el color debido (naranja oscuro), añadir algunas gotas de sosa N/10 o de ácido N/10 y agitar. Continuar la adición hasta obtener el color «Normal». — Empleo: Mezclar en una probeta 3 c. c. de leche y 3 c. c. de la solución de alizarina, observar el color y la coagulación del líquido y comparar con la gama 1-10.

 <p>COLOR NORMAL de la solución de alizarina</p>	 <p>1.º ROJO-LILAS <math>7^{\circ} S = 16^{\circ} D</math> ENV <i>Leche normal fresca</i> No hay precipitación. No coagulará a la ebullición antes de siete horas. No coagulará espontáneamente antes de dos horas.</p>	 <p>2.º ROSA <math>8^{\circ} S = 18^{\circ} D</math> ENV <i>Primer estado de acidificación</i> No hay precipitación; cuando más, copos muy finos. Coagulará espontáneamente después de 9 1/2-12 horas. Resistirá a la cocción durante 5-7 horas.</p>
 <p>3.º ROJO-PARDO <math>9^{\circ} S = 20^{\circ} D</math> ENV <i>Se desarrolla la acidificación</i> Precipitación en copos finos o muy finos. Resistirá a la cocción durante 3 1/2-5 h. Coagulará espontáneamente después de 7 1/2-9 1/2 horas. Si el color es más oscuro y el precipitado más abundante y grueso: fermentación mixta (láctica y «caseosa»). Valor comercial: discutible.</p>	 <p>4.º PARDO-ROJO <math>10^{\circ} S = 22^{\circ} D</math> ENV <i>La acidificación continúa</i> Precipitación en copos finos. Resistirá a la cocción durante 1 1/2-3 h. Coagulará espontáneamente después de 6-7 1/2 h. Si el color es más oscuro y el precipitado más abundante y grueso: fermentación mixta.</p>	
 <p>5.º PARDO <math>11^{\circ} S = 25^{\circ} D</math> ENV <i>Estado crítico</i> Precipitación en copos más o menos gruesos. Resistirá a la cocción durante 1/2-1 hora. Coagulará espontáneamente al cabo de 4 1/2-6 horas.</p>	 <p>6.º PARDO-AMARILLO <math>12^{\circ} S = 27^{\circ} D</math> ENV <i>La leche ha llegado al límite de resistencia a la cocción</i> Precipitación en gruesos o muy gruesos copos. Coagulará a la ebullición. Coagulará espontáneamente después de 3-4 1/2 h. Olor ácido, pero sabor todavía dulce.</p>	
 <p>7.º AMARILLO-PARDO <math>14^{\circ} S = 31^{\circ} D</math> ENV <i>La leche ha pasado al límite de resistencia a la cocción</i> Precipitación en copos gruesos. Ya no resistirá a la cocción. Coagulará espontáneamente después de 1 1/2-3 h. Olor y sabor ácidos.</p>	 <p>8.º AMARILLO <math>16^{\circ} S = 36^{\circ} D</math> ENV <i>La leche se acerca a la coagulación espontánea</i> Coagulación en copos muy gruesos. Coagulará por calentamiento moderado. Coagulará espontáneamente después de 1 1/2 hora como máximo. Olor y sabor: ácidos.</p>	
 <p>9.º ROJO-OSCURO <math>7^{\circ}-8^{\circ} S = 16^{\circ}-18^{\circ} D</math> ENV <i>Coagulación caseosa avanzada</i> Coagulación en gruesos o muy gruesos copos. Coagulará al primer calentamiento y con mucha rapidez espontáneamente. Sabor: dulce. Valor comercial: muy dudoso.</p>	 <p>10.º VIOLETA <math>8^{\circ}-9^{\circ} S = 18^{\circ}-20^{\circ} D</math> ENV <i>Leche llamada «alcalina», rica en sales alcalinas</i> Precipitación en copos muy finos. Leche salada, de constitución anormal impropia para el consumo bebida; impropia para la quesería.</p>	



Se mezclan 3 c. c. de leche y 3 c. c. de la solución alcohólica de alizarina y se observa la coloración que toma para compararla con la gama.

Tillmaus ha traducido en pH las distintas variaciones de color, correspondiéndose de la manera siguiente:

1 = 6'53	6 = 4.57
2 = 6'49	7 = 4'06
3 = 6'10	8 = 3'70
4 = 5'83	9 = 6'61
5 = 5'17	10 = 6'83

Por lo tanto, este procedimiento puede servir para las indicaciones colorimétricas en la investigación de la concentración iónica.

#### EL CONTROL DEL SEDIMENTO

Mejor podría llamarse el índice de la suciedad, pues con ello se comprueba la cantidad de materias que no pasan por un filtro de algodón.

La técnica consiste en hacer pasar un litro de leche por un disco de algodón especial que retiene las impurezas, quedando perfectamente visibles.

Es un indicador muy gráfico. Dejándolo secar se puede obtener el peso de las sustancias anormales que contenía, si disponemos de una buena balanza.

Estos discos pueden conservarse y archivarse, pulverizándoles con una solución de sublimado.

Los americanos tienen un patrón para clasificar las leches, según sus impurezas, admitiendo cinco categorías.

1.<sup>a</sup>, limpia; 2.<sup>a</sup>, discretamente limpia; 3.<sup>a</sup>, ligeramente sucia; 4.<sup>a</sup>, sucia, y 5.<sup>a</sup>, muy sucia.

Este patrón es muy fácil de obtener. Basta con realizar un centenar de ensayos y guardar pulverizándolos con un líquido conservador, cinco o más discos, según los tipos de clasificación que se quieran adoptar.

Además, tiene la ventaja práctica de poder enviar al dueño de la leche investigada la mitad del disco con el fin de que pueda convencerse de la calidad de su producto.

Como puede observarse por esta visión cinematográfica de métodos y técnicas, el higienista puede disponer de muy variados procedimientos para vigilar el cuidado con que se manipula la leche. Su interés no debe cifrarse en poner en manos del granjista y del lechero los procedimientos de que pueda valerse para limpiar su leche. Nuestro ideal ha de consistir en que produzca leche *pura*, pues no es lo mismo que *purificada*. Bien está que no se olvide limpiarla, mientras los procedimientos no permitan obtenerla de otra manera.

Hay que mencionar, aun que sea de una manera incidental, la pasteurización, como medio de conservar la leche. Y es preciso tener en cuenta que la mayoría de los lecheros realizan esta operación en condiciones indeseables.

Primeramente, la duración de la pasteurización no es lo suficiente para asegurar una conservación eficaz. Apenas llegan a los cinco minutos, cuando debería prolongarse hasta los veinte.

Y luego las condiciones de local e instalación son deficientísimas, que junto con la discutible limpieza de los utensilios y encargados, hacen poco menos que ilusoria la destrucción de gérmenes.

Una prueba de ello es el número elevado de microbios que hemos encontrado en la siembra de leches con pretensiones de pasteurizada.

Por los datos anteriormente consignados, se comprenderá la importancia que



tiene el control higiénico de la leche. Pero es preciso insistir en que el laboratorio no debe ser más que el indicador de la sanidad de la leche.

La labor eficaz, para conseguir un producto puro, debe empezar en la granja, con los cuidados del animal y esterilidad de los utensilios. Continuar luego con la refrigeración y el transporte en buenas condiciones de temperatura. Cuidados que no debe desdeñar el vendedor al almacenar su mercancía.

Únicamente así puede llegar al consumidor una leche con discreta cantidad de microbios.

Para ejemplo de lo que hay que adelantar, vamos a transcribir unas cifras de nuestro libro registro.

a) Leches recogidas como pasteurizadas, según declaración del vendedor:

Muestra núm.	Gérmenes vivos por c. c. de leche
2	4.000.000
47	18.000.000
56	5.200.000
70	13.000.000
87	16.000.000
88	20.000.000
103	16.000.000
112	10.000.000
124	8.200.000
148	9.000.000
170	8.700.000

b) En leches crudas recogidas antes de tres horas y preparadas las placas parasiembras antes de una hora, encontramos cifras exorbitantes:

Muestra núm.	Gérmenes vivos por c. c. de leche
43	26.000.000
45	4.200.000
84	5.800.000
102	12.000.000
108	32.000.000
158	3.200.000
186	16.000.000

Únicamente hemos encontrado tres muestras con un dosado de diez mil bacterias.

En las muestras recogidas en las mismas vaquerías y preparadas a las cuatro horas, no puede pensarse en las malas condiciones de transporte ni el tiempo transcurrido desde el ordeño a la llegada al Laboratorio. En estos casos, es la suciedad de las manipulaciones y la escasa limpieza de los utensilios lo que contamina con cifras tan formidables. Y esto sí es posible remediarlo. Lo que hace un individuo no es un imposible para otro si pone su voluntad para conseguirlo, pues no hay razón para admitir que dos vaqueros en parecidas condiciones de instalación, el uno produzca una leche con 10.000 bacterias y el otro con treinta y dos millones.

Exigir una cifra razonable a las vaquerías urbanas, que venden su producto, poco menos que a las cuatro horas de ser ordeñado, no nos parece draconiano ni extraordinariamente utópico.

La leche que procede de fuera es ya más difícil de higienizar, por diferentes motivos. El granjero corrientemente tiene sus cuadras en peores condiciones que el vaquero urbano. Los aparatos de refrigeración de la leche apenas los conoce. Los procedimientos modernos de esterilización de los utensilios no son



aplicables más que en las cooperativas o grandes productores. Los vagones frigoríficos especiales para estos transportes, no los poseen las compañías ferroviarias en la abundancia necesaria. Y, finalmente, el que explota el ganado lechero, todavía no cree en microbios, su cultura sanitaria está un poco en embrión.

Como corolario de este esbozo, me parece interesante traducir estos consejos de Magnusson, que debieran repartirse profusamente entre todos los vaqueros:

1.º Todo propietario de una hembra lechera, debe asegurarse todos los días de que las ubres de su vaca son de una consistencia normal, y de que la leche no ha sufrido modificaciones. Si no es así, esta hembra debe ser aislada. Su secreción láctea no debe tirarse al suelo, sino destruirla con verdadero cuidado.

2.º Toda hembra que haya abortado o sufra un proceso infeccioso, sea a consecuencia de una placenta no expulsada, de una metritis infecciosa o de una inflamación de las ubres, debe ser considerada como una fuente de contagio peligrosa para los otros animales. Debe ser aislada si es posible. Para las ganaderías importantes, es necesario disponer de un establo especial para los animales enfermos. A final de cuentas es lo más ventajoso.

3.º Las infecciones latentes de la ubre, con callosidades poco sensibles, deben ser vigiladas con la mayor atención. Muestras de su leche se remitirán al laboratorio para ser examinadas desde el punto de vista bacteriológico, para buscar si se trata de algo tuberculoso o estreptocócico.

4.º Si se utiliza una máquina de ordeñar, es importante no usarla para las vacas que den leche grumosa, pues éstas infectan la máquina y la enfermedad se transmite fácilmente de unos a otros animales.

El aparato ha de ser perfectamente limpiado, desinfectado y aireado después de cada ordeño.

5.º Todo animal que tose, o que por cualquier razón se sospeche de tuberculosis, debe ser enviado rápidamente al Matadero. Constituyen una amenaza para sus vecinas y un peligro para la leche, a cuyo líquido posiblemente irían a parar sus bacilos de Koch.

6.º Todas las personas encargadas del ordeño, deben conocer la importancia de las inflamaciones de las ubres. Las hembras enfermas no serán ordeñadas por las personas encargadas de las sanas. Todas las medidas de prudencia que se tomen en este sentido, pueden evitar grandes pérdidas a los propietarios de reses lecheras, y garantizan al consumidor una leche en buenas condiciones sanitarias.

En higiene efectiva de la leche, nada tenemos hecho. Es uno de los mayores problemas a resolver.

Y la cruzada ha de ser intensa y continuada. Y no desde las ciudades únicamente, sino en el campo, con labor de apóstol. Nuestra voz, escuchada y comprendida, nuestros consejos seguidos con entusiasmo, serán la vida de muchos niños, que la inconsciente ignorancia de los que comercian con leche sacrifican sin piedad.

Es preciso cambiar el símbolo que impera encima de la leche. A la mueca de la Parca, debe sustituir la sonrisa triunfal de la Vida.

#### BIBLIOGRAFIA

- S. R. DOUGLAS—J. MEANWELL.—A new method for the concentration of bacilli in tuberculous milk.—*Brit. Jour. Exp. Path.*, Octubre 1925.  
*Standard methods of milk analysis.*—New-York, 1923.  
 CALMETTE-NEGRE-BOQUET.—*Manuel technique de microbiologie et sérologie*, Paris 1925.  
 SMITH RUSSELL.—*Tenth. Ann. Rep. of the Inter. Ass. of Dairy*, Noviembre 1921.  
 F. SCHNEIDER.—El Contage según la técnica de Skat.—*Zentralblatt Milchw.*, Marzo 1923.



- J. VAN NEDERVEEN.—Sobre el control de la leche de una granja modelo de los Países Bajos, *Le Lait*, t. III, 1923.
- E. KÖMG.—El control bacteriológico de la leche del mercado de Stuttgart, etc.—*Zeitsch für Fleisch, Milch*, Dic. 1922.
- A. A. VEENBAAS.—El examen del sedimento de leche centrifugada para la investigación de estreptococos.—*Le Lait*, II, 1923.
- AYERS-CLEMMEN.—La prueba de los esporógenos como índice de la contaminación de la leche.—*Boletín Ministerio Agricul. E. U.*, Abril de 1921.
- MC. SURENBY.—El examen microscópico directo como medio de descubrir las causas de contaminación de la leche.—*Inter. Ass. of Dairy and Milk Insp.*, Noviembre de 1921.
- S. J. HUCKER.—Relación entre el número de bacterias de la leche y la calidad y rendimiento de quesos.—*New York Agr. Exp. Stat.*, Enero 1921.
- J. VIDAL.—Las aglutinaciones por sustancias químicas.—*Sociedad de Biología de Barcelona*, 1927.
- SALTHER OLE.—El aprovisionamiento de leche de la ciudad de New-York y su control.—*Inter. Ass. of Dairy and Milk Insp.*, Nov. 1921.
- PRELAR-MAITICK-WILLIAMS.—Estudio de los análisis bacteriológicos de la leche. *Grado A. Jour. of Hygiene*, Octu., 1921.
- Id. id. id.—La duración de las buenas condiciones de la leche. «Grado A. certificado».—*Jour. of Hygiene*, Diciem. 1921.
- COGLEDGE.—La comprobación de las condiciones bacteriológicas de la leche del comercio.—*Michigan Agr. Exp. Sta.*, Mayo 1921.
- G. GORINI.—Sobre los cocos mamarios y los cocos análogos.—*Le Lait*, febre. 1926.
- DUGGELL.—El total de bacterias baja con la centrifugación?—*Le Lait*, 1923.
- SALMON.—La esterilización del agua por el ozono en la industria lechera.—*Revue d'Hygiène*, Marzo 1926.
- SUPPLE-FLANIGAN.—La numeración bacteriana según los diferentes medios de cultivo.—*Ann. Rep. of the Inter. Ass. of Dairy and Milk Insp.*, Octubre 1922.
- H. KUFFERATH.—El control bacteriológico e higiénico de las leches.—*Ann. Institut Pasteur*, Julio 1919.
- HASTINGS-DAVENPORT-WRIGHT.—Influencia de ciertos factores sobre la prueba de la reductasa, etc. *Journ. of Dairy Science*, Septiembre 1922.
- BREED-BREW.—Counting bacteria by means of the microscope.—*Agr. Exp. Station Tech. Bull.* 49, 1916.
- GIOSEFF.—La escarlatina y la leche.—*L'Hygiene moderna*, Junio 1924.
- A. J. VIRTANEN.—La influencia de los coloides en la prueba de la reductasa. *Nieddeland.* núm. 229, 1922.
- L. CAMER.—Los datos microbiológicos de contaminación en el control rápido de la leche.—*Thés. de Médecine*, Lyon, 1921.
- HONERER.—La tuberculosis de la cabra.—*Comunicación al II Congreso de la cabra*, Friburg, 1925, *Le Lait*, núm. 56, 1926.
- MAITICK.—La esterilización de los pots vacíos por medio del vapor a presión. *Jour. of Hygiene*, Octubre 1921.
- KILBURN.—Proyecto de modificación del control público de la leche del comercio.—*Tent. ann. Rep. of the Inter. con. of Dairy. Sc.*, Nov. 1921.
- MAGNUSSON HILDING.—Inflamación de las ubres e higiene de la leche.—*Svenska Mejerietid etc.*, Enero 1922.
- E. SCHULTZ-A. MARX-H. BEAVER.—La relación entre la concentración de iones de hidrógeno y el contenido bacteriano de la leche.—*Jour. of Dairy. Sci.*, 1 Enero 1921.
- SCHULTZ-MARX-BEAVER.—Relación entre la concentración en iones de H y el contenido, etcétera.—*Jour. of Dairy. Sci.*, 4 Julio 1922.
- VAN OVEN.—Sobre el examen del residuo de leche centrifugada en relación con los estreptococos.—*Tidsskrift for Diergen*, Sept. 1922, analizado en *Le Lait*, II, 1923.
- KUFFERATH.—Sobre la investigación de los leucocitos de las leches.—*Annal. Inst. Pasteur*, Julio 1919.
- J. ET. MILLE BORDET.—El poder bacteriolítico de la leche y del calostro.—*C. R. Acad. Sciences*, 25 Noviem. 1924.
- G. COLUMBIK.—Pasteurización de la leche por la electricidad.—*Le Lait*, Abril 1923.
- HAMMER-HIX.—Estudio sobre el número de bacterias de la leche etc.—*Bulletin de Recher. Agricul. Exp. Station Yowa State*, Enero 1926.
- RIENAU-LEVY.—Sobre la riqueza bacteriana de una leche recogida asepticamente y conservada diferentemente.—*Le Lait*, núm. 7-8, 1923.
- HAUSSEN.—Leche bactericida.—*British Jour. of Exp. Pathol.*, Octubre 1924.
- BOLLING GEORGE.—Nota sobre los procedimientos de análisis de leche y productos derivados.—*Ass. of Dairy and Milk Inst.*, Octub. 1922.



- WEIDEMANN.—Acción de la acidez sobre los gérmenes que contiene la leche.—*Contratista veterinaria*  
*Ins. Bakte.*, en *Bull. Ins. Pasteur*, Octubre 1926.
- KOENTLES-ELSER.—Sobre la secreción láctica de las vacas enfermas de glosopeda.—*Landwirtschaft, Jahrbuch* et., To. 36, 1922.
- COOLEGE-GOODWIN.—Una experiencia de mejora de la leche en una gran ciudad.—*Agr. Ex. Stat. Michigan Sp. Bull.*, Nov. 1925.
- M. GRAHAM-E. GOLAZ.—Epidemia de difteria ocasionada por la leche.—*The Jour. of the Amer. Med. Ass.*, Octubre 1922.
- PAUL DEBURETH.—Relaciones entre la clasificación de la leche y la higiene pública.—*The Cream. and Milk.* núm. 12, 1922.
- J. VIDAL Y ROSENDA ABELLA.—Las relaciones del B. de Bang y el M. Melitensis.—*Sovietat de Biología de Barcelona*, 1926.
- VALENCIEN-PLANCHAUD.—Procedimiento rápido para escoger las leches anormales por la refractometría, la catalasimetría y la prueba del alcohol-alizarina.—*Le Lait*, núm. 7-8, 1923.
- FLEISCHMANN.—*Tratado de Leche*, Barcelona, 1924.
- KOPACEWSKI.—*Les ions d'hydrogène. Signification-Mesure-Aplications-Données numériques*, ques, París, 1926.

## Los sueros y vacunas en las infecciones animales <sup>(1)</sup>

(Conferencia dada en el Colegio de Veterinarios de Barcelona)

POR

**Cayetano López López**

DEL INSTITUTO VETERINARIO DE SUERO-VACUNACIÓN

(RECIBIDO EL 30 DE MAYO)

Fué anunciada mi conferencia con un título verdaderamente amplio y sugestivo, lo que me obliga a unas aclaraciones y consideraciones previas, para evitar la desorientación y responder a los deseos de los organizadores del curso cuyo broche final he sido encargado de colocar.

Yo creo interpretar el deseo de la mayoría prescindiendo de disertaciones netamente científicas e inclinándome por las aplicaciones prácticas de la bacteriología e inmunidad en la lucha diaria que el compañero dedicado a la clínica se ve forzado a sostener, en particular desde el momento en que solamente tienen ya valor real las enfermedades infecciosas.

Debo, por lo tanto, hacer algo así como el resumen, el balance, en la aplicación y resultados de los sueros y vacunas, poniendo de manifiesto la situación que cada uno ocupa en el plano de la profilaxis y terapia específicas, haciendo resaltar las virtudes o sacando a la luz sus defectos, en ambos casos sin salirme del camino de la divulgación, con el exclusivo objeto de hacer de esta charla una cosa asequible y de utilidad inmediata.

Bien se que esto trae como consecuencia el revisar uno por uno los principales productos, trabajo desagradable y sobre todo de escaso lucimiento, por resultar monótono para el que escucha; pero decidido a subordinarlo todo al fin dicho, hasta traigo escrita, como véis, la disertación, dispuesto a publicarla y entregaros después un ejemplar, único medio de sacar provecho, ya que de otro modo no es posible, por ser muchos los sueros y vacunas y no ser fácil retener en la memoria sus indicaciones y su base científica.

Es obligado también, aunque en abreviada exposición, el hablar del meca-

(1) Esta conferencia fué anunciada con el título de «Terapéutica específica de las infecciones animales», pero me parece más concreto el que ahora le doy.