

APLICACIÓN
DE LA
REACCION DE LA CATALASA DE LA LECHE
AL
DIAGNÓSTICO DE LA MAMITIS

POR

E. HUYNEN

Gefe de trabajos de la Escuela Veterinaria de Bruselas

TRADUCCIÓN DEL DR. C. NATALIO LOGUDICE,
DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA DE LA PLATA

Entre los procedimientos biológicos utilizados para apreciar el valor higiénico de la leche cruda, el que está basado sobre la presencia en ese líquido, de una cantidad más ó menos grande de catalasa, ocupa indiscutiblemente un lugar preponderante.

El interés que se le atribuye resulta á la vez de la facilidad de su explicación y de los resultados interesantes y útiles que suministra.

La catalasa es una diastasa, un fermento soluble y, como las otras sustancias del mismo género, no resiste al calor, su destrucción se efectúa á 65° durante media hora. De ahí resulta que la leche hervida no la contiene más, pero que, pasteurizada á una temperatura inferior á 65° puede todavía contenerla y dar la reacción característica.

La cantidad de catalasa está lejos de ser constante en la leche; se constatan diferencias notables de una especie á otra, y, en una misma especie, de una hembra á otra.

En la vaca, de cuya leche exclusivamente nos ocuparemos aquí, existen cantidades variables según el cuarto de la glándula, según el momento de la lactación, según los diferentes tiempos de un mismo ordeño y, para una misma leche, se pueden observar variaciones análogas según su grado de acidez y la duración de su conservación. En fin, la cantidad de catalasa aumenta sensiblemente en las enfermedades del animal productor en general, y en proporciones considerables en las afecciones de las glándulas mamarias en particular.

La leche de las bestias atacadas de mamitis, conteniendo una cantidad de catalasa considerablemente más elevada que la procedente de vacas sanas, era una indicación lógica utilizar la reacción de esta sustancia para el diagnóstico de dichas afecciones.

Esta reacción está basada, sobre la propiedad que posee la catalasa de descomponer el agua oxigenada en oxígeno molecular y en agua. La cantidad de catalasa es proporcional á la del gas producido, es entonces suficiente medir este último para conocer la riqueza en catalasa de la leche examinada (1).

Veremos más adelante que es necesario hacer, restricciones concernientes á los resultados, cuando el examen no puede hacerse inmediatamente después del ordeño.

TÉCNICA

Se mezcla un volúmen determinado de leche con una cantidad fija de agua oxigenada y se nota, después de un tiempo dado (dos horas en general) (2) el volúmen de gas formado.

(1) Se puede también dosar el volúmen de oxígeno desprendido, determinando, por un titrage á hiposulfito de soda, el yodo puesto en la libertad por acción del agua oxigenada no descompuesta sobre yoduro de potasio. Este procedimiento es más preciso pero menos práctico.

(2) Este tiempo es puramente convencional y no indica el término de la reacción la que puede prolongarse hasta después de 24 horas.

El agua oxigenada empleada es una solución al 1 % de peróxido de hidrógeno (H^2O^2). Como el agua oxigenada del comercio, 10 á 12 volúmenes, contiene en peso 3 % de peróxido, se tomará para obtener la solución al 1 %, una parte de este producto y dos partes de agua destilada ó agua común, previamente hervida y filtrada.

Se opera generalmente con una mezcla hecha en las proporciones de 1 p. de agua oxigenada por 3 p. de leche.

Para hacer la reacción se pueden utilizar diversos aparatos; hemos desde luego empleado el fermentómetro ordinario (fig. 1).

A ese efecto, á 15 c. c. de leche se agrega, en un tubo de ensayo, 5 c. c. de agua oxigenada al 1 %; los dos líquidos se mezclan íntimamente y se introducen en el aparato, llenando el tubo vertical. El fermentómetro se lleva enseguida á una temperatura vecina á la del cuerpo y de preferencia á la estufa á 37°. Al cabo de algunos instantes, el gas comienza á formarse y se acumula en la extremidad superior del tubo arrastrando á la leche hacia la parte abultada del aparato y por consiguiente á medida que la reacción progresa, interviene una cantidad cada vez más débil de la mezcla.

Al cabo de dos horas se retira el aparato de la estufa y después de algunos instantes, lo necesario para que tome la temperatura ordinaria, se observa el volúmen de gas producido.

Así, como se lo puede ver en la fig. 1, el tubo vertical del fermentómetro contiene más ó menos 6 c. c. $\frac{2}{3}$, es decir que, aproximativamente 5 c. c. de leche y 1 c. c. $\frac{2}{3}$ de agua oxigenada al 1 %, intervienen para dar el gas recogido.

El fermentómetro presenta sin embargo ciertos inconvenientes, de los cuales no indicaremos sino el principal: la cantidad de mezcla que contribuye á la formación del gas no es la misma al final de la operación como al comienzo, pues se puede constatar que la parte de líquido que es arrastrada hacia la porción abultada del aparato, es muy rica en glóbulos blancos, los que se han depositado en la parte en declive en virtud de su densidad y que estos mismos glóbulos blancos descomponen intensamente el agua oxigenada; de ahí se des-

prende que no es posible conocer por medio de este dispositivo, el volúmen exacto de gas producido por una cantidad dada de leche.

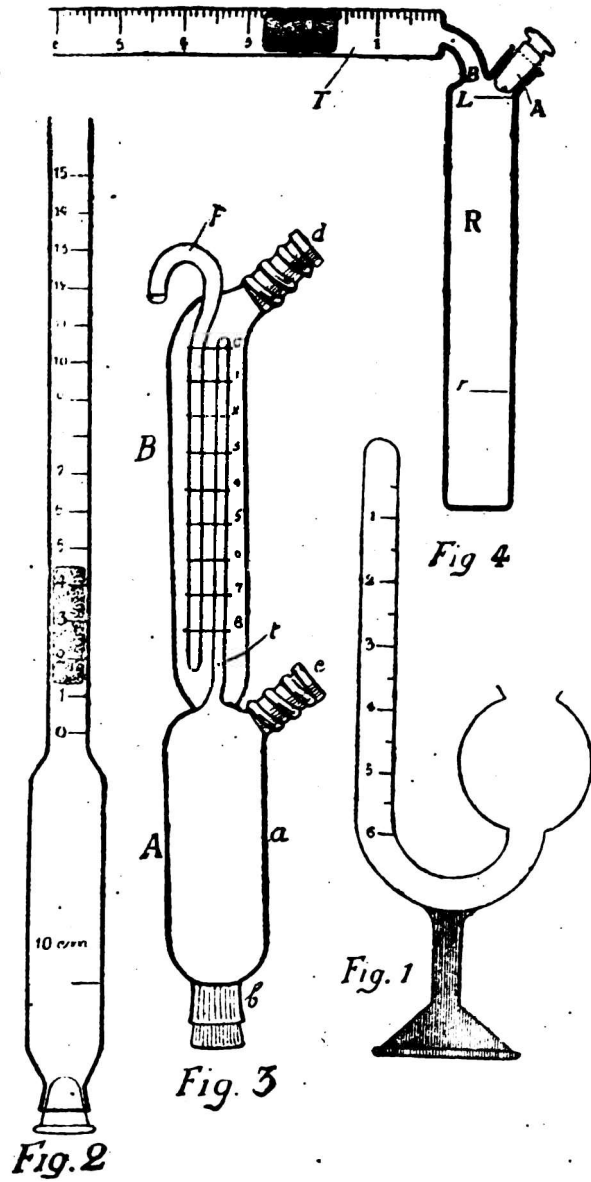
Numerosos aparatos han sido preconizados para obtener ese resultado.

El propuesto por Koestler consiste en un recipiente de vidrio, destinado á recibir la leche y el reativo, y en un tubo graduado, que se adapta sobre ese recipiente por medio de un tapón de goma, el que á su vez es tapado por un pequeño cilindro de agar. Este es levantado por el gas producido durante el curso de la reacción y se puede, después de dos horas, darse cuenta del volúmen de gas formado gracias al desplazamiento sufrido por ese tapón.

Burri y Staub han introducido en la técnica un aparato (fig. 2) análogo al precedente; está formado por un tubo de vidrio graduado (15 c. c.), terminándose inferiormente por una parte abultada conteniendo exactamente 13 c. c. y cerrado por un tapón de vidrio esmerilado. En la porción graduada se desliza un cursor de agar que se lleva á 0 antes de la reacción. Se introducen enseguida en la parte abultada, 10 c. c. de leche y 3 c. c. de agua oxigenada al 1 %. El aparato se cierra y se invierte. El gas desplaza bien pronto al cilindro de agar que indica el volúmen de gas producido.

El catalasímetro del doctor Lobecks (fig. 3) se compone de dos reservorios cilíndricos superpuestos, pero que no se comunican directamente. El inferior *A* recibe la mezcla de leche y agua oxigenada por la abertura *c* que se cierra herméticamente. El gas es llevado por el tubo *t* á la parte superior del segundo cilindro *B*, que comunica con el exterior por medio de un tubo *f* que toma su origen en el fondo de ese mismo cilindro. Este, antes de la operación se llena de agua hasta la graduación *o* por la abertura *d* que se cierra inmediatamente como la abertura *c*. A medida que el gas llega á la parte superior del cilindro *B*, expulsa el agua al exterior por el tubo *f*.

El nivel de esta bajando cada vez más, indica sobre la graduación del tubo el volúmen de oxígeno desprendido durante el curso de la reacción.



Con el fin de facilitar la aplicación de la reacción de la catalasa dándole toda su precisión, hemos imaginado el dispositivo representado por la fig. 4, basado sobre el mismo principio que los aparatos de Koestler y Burri y Staub. En este último el cilindro de agar desplazándose verticalmente exige, para ser levantado, una cierta presión de gas, proporcional al peso del cilindro de agar. Dando una disposición horizontal al tubo donde desliza éste, evitamos la compresión del gas y la operación resulta más precisa.

El aparato se compone de un reservorio *R* destinado á contener la leche y el agua oxigenada, presentando en su extremidad superior, dos aberturas: una de ellas *A*, amplia y pudiendo ser cerrada herméticamente y la otra *B* estrecha y haciendo comunicar dicho reservorio con el tubo *T*. Este es graduado en centímetros cúbicos y horizontal; debe ser exactamente calibrado y recibir para la reacción un cilindro de agar. El empleo de este aparato es de los más fáciles. Se empieza por colocar en el tubo *T* un tapón de agar que se lo lleva al nivel de 0 de la graduación y donde es detenido por la extrangulación brusca del tubo; se introduce enseguida en el reservorio 2 c. c. de agua oxigenada al 1 % y 5 c. c. de leche por la abertura *A*, que se cierra rápida y herméticamente. El gas que se produce, llega al tubo graduado y desplaza el tapón de agar más ó menos según la cantidad de catalasa contenida en la leche.

Los cilindros de agar se confeccionan con una solución de agar al 3 %, ésta (caliente) se vierte en el tubo graduado ó en otro tubo poseyendo exactamente el mismo calibre; después de enfriada se retira el cilindro y se lo corta en fragmentos de 1 á 2 centímetros de largo. Estos tapones se adaptan exactamente y deslizan fácilmente en el tubo, sobretudo cuando se los ha humecido con una solución diluida de potasa.

Se conservan muy bien en agua debidamente alcalina y adicionada de algunas gotas de formol; pueden servir para varias reacciones.

REACCIÓN

A—LECHE NORMAL

Numerosas observaciones practicadas sobre leches recogidas en nuestra presencia é inmediatamente sometida á la reacción han dado los siguientes resultados:

5 c. c. de leche provenientes de vacas sanas, en buen estado de gordura y sin afecciones mamarias, dan cantidades de oxígeno variables entre 0.1 y 1.2 c. c.

Antes de retirar la leche necesaria para la reacción habíamos tenido el cuidado de mezclar convenientemente la leche resultado del ordeño, á fin de obtener un todo homogéneo. Si no se toma esta precaución, se expone á tener resultados discordantes. En efecto, la catalasa no se encuentra repartida uniformemente en la leche que ha reposado durante un cierto tiempo: la crema, como el depósito dan siempre una reacción más rápida y más intensa.

Por otro lado, la leche no contiene la misma cantidad de catalasa en los diferentes cuartos de la glándula, así como lo prueban las siguientes experiencias:

		Cuarto anterior derecho	Cuarto anterior izquierdo	Cuarto posterior derecho	Cuarto posterior izquierdo
Vaca	I	0.2	0.7	0.4	0.7
"	II	0.8	0.3	0.9	1.0
"	III	0.6	0.4	0.8	0.8
"	IV	0.9	1.0	0.3	0.6

Una diferencia muy interesante de la reacción se presenta durante el curso de un mismo ordeño, se constata, de una manera general, que la cantidad de catalasa aumenta desde el comienzo hasta el fin de la operación, como atestigua el cuadro siguiente:

		Primer tiempo	Segundo tiempo	Tercer tiempo	Cuarto tiempo	Quinto tiempo	Último tiempo
Vaca	I	0.2	0.4	0.4	0.6	0.8	0.9
"	II	0.0	0.3	0.2	0.4	0.4	0.5
"	III	0.1	0.1	0.3	0.2	0.3	0.3
"	IV	0.3	0.5	0.7	0.6	0.7	0.9

Durante el curso de un período de lactación, se observa, en una misma vaca, diferencias de reacción relativamente considerables, sobre todo durante el período calostrual, los calores y al fin de la lactación.

El calostrum posee una reacción catalisante muy intensa y puede dar hasta 4 c. c. de oxígeno. La leche no toma una reacción normal sinó después de varios días.

En el período de los calores la catalasa puede igualmente ser abundante, la leche recogida en esas circunstancias nos ha dado hasta 3 c. c. de oxígeno.

Al final del período de lactación se observa un aumento análogo pero menos pronunciado.

FACTORES SUSCEPTIBLES DE MODIFICAR LA REACCION DE LA LECHE NORMAL

a) Acidez y alcalinidad

Cualquier leche, dá el maximum de reacción cuando es neutra; la acidez y la alcalinidad transtornan más ó menos la acción.

A fin de poder juzgar convenientemente las diferencias obtenidas en las distintas leches, pensamos que habría necesidad de controlar la reacción química de toda la leche antes de dosar la catalasa; y llevarla al estado neutro agregando un alcalino (solución de soda) si es ácida, ó bien un ácido (ácido láctico), si es alcalina.

El cuadro siguiente resume algunas experiencias que hemos renovado á menudo y que demuestran netamente la influencia de la acidez y la alcalinidad sobre la reacción catalisante de la leche.

LECHE		H ² O ² al 1 %	— 2 c. c.
5 c. c.		+	1.1
"	+ 2 gotas ac. láct. al 10 %	+	0.9
"	+ 4 " "	+	0.7
"	+ 6 " "	+	0.5
"	+ 8 " "	+	0.2
"	+ 10 " "	+	0.0
"	+ 2 gotas soda al 10 %	+	0.9
"	+ 4 " "	+	0.6
"	+ 6 " "	+	0.3
"	+ 8 " "	+	0.1
"	+ 10 " "	+	0.0

Como se vé, la catalasa no se destruye por adición de ácido ó alcalino, sino se paraliza, hasta llevar la leche al estado neutro para que adquiera su propiedad catalisante.

Estos datos nos parecen tener cierta importancia desde el punto de vista práctico, á una leche poseyendo una reacción anormal en el momento del ordeño, es así posible darle una reacción normal. Es muy poco probable que se haga uso en ese caso de un ácido por temor de provocar una coagulación precóz, pero se podría perfectamente servirse de un alcalino y en particular de la soda, tanto más que la adición de una débil dosis no baja, no solamente la acción catalisante sino que retarda la coagulación, tan rápida en las leches alteradas. Los alcalinos débiles como el carbonato y bicarbonato de soda, agregados en pequeña cantidad, no disminuyen la reacción sino que la aumentan, mientras que todos los ácidos la disminuyen.

b) Cantidad de sales que contiene la leche

Cuando se añade á la leche una cierta cantidad de una sal cualquiera, se le aumenta por lo general su propiedad catalisante. Esta acción especial de las sales sobre la reacción de la catalasa, recuerda la de los anticuerpos de los cuales la mayor parte actúan mucho mejor en presencia de las sales y en particular del cloruro sódico. Aunque esta noción no nos parece tener mayor importancia desde el punto de vista práctico, hemos creído sin embargo, interesante señalarla.

c) Duración de la conservación de la leche

La cantidad de catalasa libre en la leche aumenta con el tiempo de su conservación, pero no proporcionalmente; en general la acidez de la leche aumentando á medida que el tiempo pasa, disminuye más ó menos la acción de la catalasa y puede llegar hasta paralizarla completamente. En ese caso, para hacer el dosaje convenientemente, es necesario llevar la leche al estado neutro.

La adición de cloroformo (2 gramos por 100 de leche) impediría la producción de catalasa.

Así como lo acabamos de ver, 5 c. c. de leche fresca y proveniente de vacas sanas pueden dar hasta 1,2 c. m. de oxígeno. *Toda leche dando por lo menos 1.5 c. m. cúbico será considerada como sospechosa.*

B--LECHE PATOLÓGICA

Analizaremos sucesivamente la reacción catalizante de la leche en las vacas que sufren de una afección general cualquiera sin localización mamaria, enseguida aquellas que presentan afecciones mamarias en vías de evolución ó dudosas y en fin las atacadas de mamitis bien evidentes.

En las afecciones generales y sobre todo en aquellas acompañadas de fiebre, la cantidad de catalasa libre en la leche aumenta sensiblemente. Las indigestiones, el timpanismo, las afecciones pulmonares ó intestinales, generalmente febriles, actúan en el mismo sentido.

Pero la exageración de la reacción catalisante adquiere toda su magnitud y su significación toma toda su importancia en las mamitis.

Tomemos algunos ejemplos. Al lado de las reacciones obtenidas de la leche tal cual ha sido extraída, damos aquellas de la misma leche neutralizada.

a) Leche proveniente de vacas atacadas de mamitis no específicas

Leche	I da	3.4	neutralizada	3.8
"	II "	3.2	"	3.4
"	III "	3.1	"	3.5
"	IV "	4.0	"	4.3

b) Leche proveniente de vacas atacadas de mamitis streptocócica

Leche	I da	2.8	neutralizada	3.6
"	II "	3.6	"	5.6
"	III "	3.8	"	4.2
"	VI "	3.6	"	3.9

El máximo de desprendimiento gaseoso (5.4) fué obtenido con leche streptocócica previamente neutralizada.

c) Leche proveniente de vacas atacadas de mamitis tuberculosa

Las muestras que hemos examinado de esa leche han producido cantidades de gas que oscilan entre 2.8 c. c. y 4.8 c. c.

Pero la reacción catalisante de la leche no es solamente anormal en las mamitis constatables clínicamente, sinó que aparece mucho tiempo antes que los signos clínicos hagan suponer la existencia de alteraciones glandulares, y su constatación permite hacer el diagnóstico precoz de las mamitis. Este es sobre todo posible en la tuberculosis mamaria, que se desarrolla generalmente de una manera insidiosa, sin fenómenos congestivos ni alteración visible de la leche. La aplicación de la reacción de la catalasa permitiendo así sospechar la tuberculosis mamaria en su comienzo, podría desde ese punto de vista prestar servicios apreciables.

Debemos agregar, sin embargo, que en una tropa de vacas lecheras en buen estado de gordura y sin afecciones mamarías, se constata á veces una que otra presentando la reacción anormal. Esta anomalía es poco pronunciada y desaparece al cabo de algunos días; desde luego basta apartar el animal y practicar análisis diarios de su leche para constatar que á veces lentamente y otras bruscamente, la reacción se vuelve normal.

CONCLUSIONES

La reacción de la catalasa merece que se la tome en seria consideración. Su aplicación es fácil; los resultados concuerdan con los obtenidos por otros métodos; permite diagnosticar los casos dudosos de mamitis en general y especialmente la mamitis tuberculosa. Cuando la leche proveniente de una lechería, presenta propiedades anormales, una investigación rápida por medio del examen individual permite eliminar los animales que producen mala leche. Para tener resultados, los más exactos posible, es necesario naturalmente tener en cuenta los diferentes factores susceptibles de modificar la reacción.