

nas y las núcleo-albúminas. Sin embargo, cuando la albúmina está claramente comprobada en un enfermo, el procedimiento de Esbach es útil para seguir las variaciones de la albuminuria.

Se emplea el reactivo picro-cítrico formulado de la manera siguiente:

Acido pícrico. . . . .	10 gramos.
Acido cítrico. . . . .	20 —
Agua destilada. . . . .	600 á 800 —

y el tubo de Esbach, que lleva en su parte superior una raya R, en su parte media una raya U, y en su parte inferior divisiones de 1 á 7, correspondientes á las cantidades de albúmina en peso.

Se vierte la orina, hecha ácida por algunas gotas de ácido acético, en el tubo de Esbach hasta la raya U, y después el reactivo hasta la raya R. Se tapa el tubo con el pulgar y se vuelve una docena de veces sin sacudirlo. Se pone un tapón. Entonces se deja reposar verticalmente durante veinticuatro horas. Al cabo de este tiempo se evalúa la altura del precipitado. Cada división representa en gramos la proporción de albúmina por litro. Es conveniente evaluar, no por los bordes, sino por el medio del precipitado albuminoso.

Cuando la orina es demasiado rica en albúmina, se le añaden uno ó dos volúmenes de agua. Esto se tiene en cuenta al hacer la evaluación.

*Dosificación por el peso.* — La orina es acidificada, y después filtrada cuidadosamente en un filtro blanco apretado. Se toma una cantidad conveniente de orina, de 25 á 100 centímetros cúbicos, de manera que contenga de 0'25 gramos á 0'30 gramos de albúmina seca. Se pone la orina en una cápsula de porcelana, calentándola hasta la ebullición y teniendo cuidado de agitar constantemente para evitar la adherencia del coágulo á la pared. Se deja hervir algunos segundos, y el líquido hirviendo es filtrado en un filtro pesado. La cápsula se lava con agua destilada hirviendo, que se vierte en el filtro. Entonces conviene lavar el precipitado con agua hirviendo por medio de un tubo afilado de vidrio, hasta que aquél quede completamente blanco. Algunas veces se termina con un lavado por medio del alcohol caliente. Se deseca el precipitado en la estufa, á 100°, ó en un desecador construido por Yvón á 102°. Se pesa: el aumento de peso es debido á la albúmina. La cantidad de ésta es reducida al litro ó al volumen en las veinticuatro horas.

En este procedimiento se pierde una pequeña cantidad de albúmina, que queda disuelta en los líquidos.

3.º *DISTINCIÓN DE LAS SUBSTANCIAS ALBUMINOIDES.* — Al lado de la serina y de la hidropisina (fibrina disuelta), que constituyen la albúmina

urinaria propiamente hablando, la orina contiene otras materias albuminoideas que existen al mismo tiempo que la albúmina ó aisladamente, y cuyos caracteres especiales es preciso estudiar.

*Globulina.* — Llamada así por Berzélius, la globulina, materia albuminoide que existe en los hematíes, ha sido aislada por primera vez en la orina por Lehmann. Ofrece caracteres comunes con la serina; se coagula por el calor, pero su punto de coagulación completa es más elevado, (80° en lugar de 72), por el ácido nítrico y el reactivo de Tanret. Ofrece como carácter particular el precipitar por el empleo asociado del amoníaco y el ácido acético, en cantidad tal que el segundo líquido neutralice al primero.

Para reconocer la existencia de la globulina en una orina, se pueden emplear diferentes procedimientos clínicos:

1.º Se dilata la orina filtrada en 15 ó 20 veces su volumen de agua y se añade una gota de ácido acético (Edlefsen). Se produce un enturbiamiento y también un precipitado si la orina contiene globulina.

2.º Se mezcla la orina filtrada con su volumen de una disolución saturada de sulfato de magnesia; se agita y se deja reposar veinticuatro horas en un sitio fresco. Se produce un coágulo que flota en la superficie ó en el centro del líquido.

Este segundo procedimiento sirve también para la *dosificación* por diferencia. Primeramente se dosifican por coagulación la globulina y la serina. En seguida se separa la globulina por el sulfato de magnesia; el líquido filtrado contiene la serina, que se coagula por el calor y el ácido acético. El precipitado de serina es lavado en un filtro con gran cuidado, hasta que no precipita ya por el cloruro de bario. Se obtiene el peso de la serina, teniendo en cuenta, al hacer el cálculo, la dilución que la orina ha experimentado por la adición del sulfato de magnesia. Restando el peso de la serina del peso total, se obtiene la globulina por diferencia.

*Núcleo-albúminas.* — Las núcleo-albúminas, que se encuentran en las orinas purulentas y contienen fósforo, ofrecen como carácter primordial el precipitar en frío por el ácido acético.

*Albúmina aceto-soluble.* — Se encuentran también en la orina otros albuminoides que pueden estar en ella de una manera transitoria, tales como la albúmina aceto-soluble de Patein, cuya particularidad consiste en su solubilidad en algunas gotas de ácido acético.

*Peptonas.* — Se revelan las peptonas en la orina:

1.º Empleando el *reactivo de Tanret*. El precipitado producido se disuelve bajo la influencia del calor, lo que permite diferenciar las pepto-

nas de la serina y de la globulina. Este precipitado se reproduce por enfriamiento.

Queda una *causa de error*; la existencia de alcaloides, que se precipitan igualmente por el *reactivo de Tanret*, y cuyo precipitado se disuelve igualmente por el calor. Para hacer la diferenciación, se empleará el éter de (6° (Yvón). El precipitado debido á las peptonas se disuelve casi enteramente, ó mejor, se retrae en el éter y extiende en una capa delgada resinosa. En todo caso la orina se aclara completamente.

Habremos podido asegurarnos previamente de la ausencia de alcaloides, empleando en una muestra de orina el reactivo de Bouchardat (véase más adelante), que precipita los alcaloides. La investigación de las peptonas se hará en otra muestra. Cuando una orina que no contenga albúmina da un precipitado con el reactivo de Tanret, y no lo da con el reactivo de Bouchardat, se puede decir que contiene peptonas (Yvón).

2.º Las peptonas están caracterizadas por la *reacción del biuret*, es decir, por una coloración rosa violácea por el sulfato de cobre en presencia de un álcali cáustico (sosa ó potasa). Pero es necesario que las orinas no contengan albúmina. Si la contienen, se separa la albúmina por el filtro después de haber llevado á la ebullición la orina acidificada por el ácido acético y saturada de cloruro de sodio. En la orina filtrada, se busca la reacción del biuret. Esta reacción, para ser clara, si la orina sólo contiene poca peptona, necesita el aislamiento de ésta, para lo cual han de consultarse las obras especiales.

**Glucosa.**—Se procede á la investigación de la glucosa y á su dosificación. Indicaremos después los procedimientos clínicos para reconocer la sacarosa, la lactosa y la levulosa.

INVESTIGACIÓN DE LA GLUCOSA.—En la investigación del azúcar urinario, cualquiera que sea el procedimiento empleado y para evitar las causas de error, es necesario operar con una orina filtrada y depurada por el subacetato de plomo en solución al 1/10. La orina es entonces tratada por el carbonato de sosa, que arrastra el exceso de plomo, filtrada y puesta en relación con el reactivo.

*Líquido cupro-potásico.*—El procedimiento más rápido y más exacto es el del licor de Fehling. Se vierten en un tubo de ensayo bien limpio algunos centímetros cúbicos del licor de Fehling, y se lleva á la ebullición. Si se enturbia, se tira, porque no es utilizable. Si permanece azul y transparente, se vierte gota á gota á lo largo de las paredes del tubo, una pequeña cantidad de la orina que ha de examinarse, la cual sobrenada en el reactivo. Se lleva á la ebullición. Cuando la orina contiene azúcar, se forma en la unión de los líquidos una capa, al principio

verdosa, que pasa rápidamente al amarillo, al anaranjado y al rojo, precipitándose después <sup>1</sup>.

En los casos dudosos, se dejarán en contacto durante veinticuatro horas y en frío el licor de Fehling y la orina. El azúcar se descubre frío por el líquido cupro-potásico.

El licor de Fehling se prepara así:

A	{ Sulfato de cobre puro y cristalizado. . . . .	34 gr. 65
	{ Agua. . . . .	200 gramos
B	{ Tartrato de potasa y de sosa (sal de Seignette. . . . .	173 —
	{ Lejía de sosa pura (D=13,3). . . . .	300 —

Se vierte en el licor A el líquido B. Se forma un precipitado, que se disuelve por agitación. Entonces se añade la cantidad de agua necesaria para obtener un litro de líquido.

Preparado de esta manera, el licor de Fehling puede servir igualmente para la dosificación del azúcar.

El empleo del licor de Fehling da lugar algunas veces á *causas de error* <sup>2</sup>, especialmente si no se opera con una orina *depurada*. La presencia de la albúmina en la orina dificulta la reducción, pasando el líquido al violeta. Por la *depuración* se evita la causa de error. Se eliminan también los uratos y el ácido úrico, que por lo demás sólo reducen el licor después de una ebullición prolongada y especialmente durante el enfriamiento. La reacción no es completamente limpia si la orina contiene sales amoniacales, que absorben la sosa del licor de Fehling, mientras que se desprende el amoniaco. En presencia de una orina fermentada, se la hace hervir previamente con la lejía de sosa, en tanto que se desprende el amoniaco.

En caso de duda, y como comprobación, se recurrirá á los procedimientos siguientes:

*Potasa cáustica. Cal cáustica.*—Primeramente se tratan de 25 ó 30 centímetros cúbicos de orina en una probeta con algunas pastillas de potasa cáustica. Se agita con un tubo de cristal hasta disolución, siendo así

<sup>1</sup> Según M. Grimbert, se puede deducir la cantidad de azúcar de la orina según el color de los precipitados.

Azul verdoso, corresponde á. . . . .	0.50 por 1000
Verde manzana. . . . .	1 —
Verde oliva. . . . .	2 —
Amarillo sucio. . . . .	4 —

<sup>2</sup> Debe saberse, además, que hay medicamentos que ejercen acción sobre el licor de Fehling, como: la antipirina, el cloral, el salol, el sulfonal, la esencia de trementina, la copaiba y sus compuestos, acetanilida, ruibarbo y sen. La orina de los que comen espárragos reduce igualmente el licor de Fehling.

precipitados los fosfatos térreos. Se toma una cantidad de orina, que se vierte en un tubo de ensayo y se calienta la parte superior solamente hasta la ebullición. El líquido se colorea de amarillo obscuro, que puede llegar hasta el negro.

Es de notar que la orina que contiene *alcaptona* reduce el líquido de Fehling y se ennegrece bajo la influencia de la potasa cáustica, pero esta acción de la potasa se produce en frío con la *alcaptona*. Además ésta no obra sobre la luz polarizada.

M. Bouchardat prefiere á la potasa cáustica la cal: 5 gramos de cal para 50 gramos de orina, que se hacen hervir. Se forma un precipitado de glucosato de cal.

*Procedimiento de Nylander.*—Este procedimiento, fundado en la reducción del subnitrito de bismuto en un medio alcalino por el azúcar, consiste en tratar en caliente, por el reactivo siguiente, la orina depurada.

Subnitrito de bismuto. . . . .	2 gramos
Sal de Seignette. . . . .	4 —
Potasa cáustica. . . . .	8 —
Agua. . . . .	100 —

1 Decántase después de enfriado.

Se forma un precipitado gris negruzco de bismuto.

El inconveniente de este procedimiento consiste en la formación posible de sulfuros á expensas del azufre de la orina; resulta igualmente en este caso una coloración negra.

También se puede utilizar el *reactivo de Mulder*, solución alcalina (con el carbonato de potasa ó de sosa) de carmín de índigo. Por la ebullición la orina *depurada* se hace roja ó amarilla, según la cantidad de azúcar.

Si se la deja enfriar en contacto con el aire, hay reoxidación. La orina vuelve poco á poco á su color azul.

El *procedimiento de Sélvianoff* se ideó para la levulosa, pero sirve también para la glucosa. Se calienta un volumen de orina con un volumen de ácido clorhídrico dilatado en su volumen de agua. Se añade un volumen de resoreina en solución al 1 por 100. Por el calor se obtiene una hermosa coloración rojo-cereza.

No hablaremos aquí del empleo de la *fenilhidrazina*, que da lugar á la formación de cristales de *fenilglucosazona*. La reacción, á menudo muy larga, es realmente dudosa.

Un último procedimiento, que vamos á indicar, es la *fermentación*. En la orina en que se sospecha la existencia del azúcar se deslíe, en el fondo de un tubo de ensayo, un poco de levadura de cerveza purificada

por lavados sucesivos. Se llena el tubo completamente de orina y se cierra por medio de un tapón atravesado por un tubo doblemente encorvado, llevándolo á la estufa á los 35°. Despréndese gas carbónico, y el líquido se escapa poco á poco, vaciándose el tubo completamente casi siempre en dos ó tres horas.

*DOSIFICACIÓN DE LA GLUCOSA.*—Aproximadamente puede evaluarse la cantidad de glucosa contenida en una orina, según Bouehardat, multiplicando por 2 las dos últimas cifras de la densidad de la orina y multiplicando este producto por el número de litros emitidos por el enfermo. De este resultado se restan 50 gramos, ó, si hay poliuria, 60 gramos, que corresponden á los materiales salidos de la orina que no son la glucosa.

La dosificación de ésta se hace por medio del licor de Fehling graduado, ó por medio de aparatos especiales, los sacarímetros.

*Dosificación por el licor de Fehling.*—Se emplea el licor de Fehling preparado como se ha dicho más arriba. Pero es necesario, en todos los casos, graduarlo antes de emplearlo.

Se hace la *graduación del licor de Fehling* por medio de una solución de glucosa pura al 1 por 200 gramos de agua. Se pone á hervir á fuego lento, sobre un trípode recubierto de una tela metálica, y en un matraz de fondo plano, 10 centímetros cúbicos del licor de Fehling que se ha de graduar. Teóricamente estos 10 centímetros cúbicos son reducidos por 5 centigramos de glucosa, ó sea por 10 centímetros cúbicos de la solución de glucosa empleada. Se dilata con agua hasta 50 centímetros cúbicos el licor de Fehling. Por medio de una bureta graduada se deja caer gota á gota la solución graduada de glucosa. El licor es reducido, se forma un precipitado, al mismo tiempo que el líquido se decolora. De cuando en cuando se va observando, retirando el matraz del fuego. — pero sin que se deje enfriar, porque el precipitado se redisolventaría — si la coloración ha desaparecido. Para esto, se le pone sobre una hoja de papel blanco, donde se le examina por transparencia de abajo arriba. La operación está terminada cuando el licor queda completamente decolorado. Con objeto de comprobar que la graduación es exacta, se filtra rápidamente. El líquido filtrado no ha de dar el precipitado de cobre ni con el licor de Fehling ni con la solución de glucosa. Se repite varias veces la misma operación para obtener resultados análogos. Sabiendo el número de centímetros cúbicos de la solución de glucosa empleados, es fácil conocer por una simple operación la graduación del licor de Fehling.

En cuanto se refiere á la orina, conviene conocer aproximadamente

la proporción de azúcar que contiene, de modo que 10 centímetros cúbicos contengan 10 centigramos (ó sean 10 gramos por litro). La fórmula de Bouchardat sirve para fijar la cifra aproximada. La orina se dilata en agua hasta donde convenga.

Entonces se opera como acabamos de decir: Se llevan lentamente á la ebullición sobre un trípode cubierto de tela metálica, y en un matraz de fondo plano, 10 centímetros cúbicos del licor de Fehling, al cual se añaden 2 ó 3 centímetros cúbicos de lejía de sosa y se dilata hasta 50 centímetros cúbicos con agua destilada. Entonces se filtra la orina, siendo ventajoso depurarla, é indispensable si contiene albumina. Con este objeto se vierten 10 centímetros cúbicos de orina en una probeta graduada, añadiendo acetato de plomo, agitando y dejando caer la espuma; después se vierte una disolución dilatada de carbonato de sosa, de manera que se obtenga un volumen de 50 centímetros cúbicos. La orina se encuentra diluída al 1/5. Se filtra y por medio de la bureta graduada se deja caer gota á gota la orina hasta que haya decoloración. La cantidad de orina necesaria para producir la decoloración marca el grado de la solución. Teniendo en cuenta la dilución que ha sufrido la orina, se obtiene el resultado.

Yvón recomienda que no se deje caer más orina de la bureta hasta que la orina precedente haya agotado su acción sobre el líquido cúprico. En esto precisamente consiste la particularidad de este método.

Cuando la dosificación del azúcar ha de hacerse con una pequeña cantidad de orina, Yvón aconseja mezclar, en el matraz de fondo plano sometido á una ebullición lenta, con los 10 centímetros cúbicos del licor de Fehling, 1 centímetro cúbico de la orina estudiada que reduce una parte del licor. Con la solución de glucosa se determina la decoloración completa del licor, y comparando la cantidad de glucosa empleada con la que ha servido en un ensayo de graduación, por una sencilla sustracción, se tiene la cantidad de glucosa de 1 centímetro cúbico de orina y por consiguiente del litro.

Raugé indica un procedimiento de *dosificación rápida* del azúcar. Consiste en contar en un tubo de ensayo diez y ocho gotas de licor graduado, llevándolo á la ebullición para asegurarse de que no está alterado, y añadir con el mismo cuenta-gotas lavado la orina que se ha de ensayar. Se la deja caer lentamente sobre el reactivo en ebullición y á cada nueva gota que caiga conviene observar si el líquido se aclara, cesando cuando ha desaparecido completamente la coloración azul, cuando el líquido examinado por transparencia aparezca claro como el agua. Entonces bastará con dividir por el número de gotas empleadas la

cifra invariable 100, para obtener así en gramos y en centigramos la proporción de azúcar por litro.

En cuanto á la dosificación del azúcar por medio del *sacarímetro*, se ha hecho con el estudio teórico y práctico de este instrumento.

El polarímetro, muy preciso, resulta insuficiente cuando la orina sólo contiene indicios de azúcar. En efecto, cada grado sacarimétrico corresponde solamente á un poco más de 2 gramos por litro. Para una desviación de algunas décimas de grado es necesario tener en cuenta el error personal. Además conviene recordar que la orina contiene también varias substancias poco conocidas, que determinan una desviación del polarímetro.

INVESTIGACIÓN DE OTROS AZÚCARES URINARIOS.—*Sacarosa. Lactosa. Levulosa.*—Sólo diremos algunas palabras sobre la investigación clínica de estos azúcares. La lactosa y la levulosa se revelan por el reactivo cuprc-potásico. Se reconocerá la levulosa con el polarímetro, verificándose la desviación á la izquierda y no á la derecha.

En lo que se refiere á la sacarosa, después de haber depurado la orina y antes de añadir el licor de Fehling se interviene añadiendo una gota de ácido clorhídrico y haciéndola hervir.

**Bilis.**—Tan indispensable como la de la albúmina y del azúcar es la investigación de los elementos normales de la bilis, pigmentos y ácidos biliares, ó de los elementos biliares anormales, urobilina, cromógeno de urobilina, que la orina puede contener en estado patológico.

PIGMENTOS BILIARES.—Son en número de cinco: bilirrubina y sus derivados, biliverdina, biliprasina, bilifuchsina y bilihumina.

Se les reconoce ya en la orina por la coloración anaranjada, rojoparda ó negra ó francamente verde, que presenta en las manchas que deja en la ropa interior ó en el papel, y especialmente en el tinte de la espuma que se obtiene agitando el líquido.

De los numerosos procedimientos empleados para descubrir los pigmentos biliares describiremos los más usuales:

*Reacción de Gmelin.*—El ácido nítrico nítrico, que se obtiene por la exposición del ácido nítrico al sol, da lugar, por su acción sobre la bilirrubina en solución alcalina, á la formación de una serie de colores: verde, azul, violeta, rojo y amarillo. En la práctica, se vierten en una copa algunos centímetros cúbicos de ácido nítrico nítrico. Se deja caer gota á gota la orina que se estudia después de haberla filtrado. A nivel de la separación de los líquidos y extendiéndose en la orina, se produce la sucesión de colores superpuestos en el orden que hemos indicado. Los colores característicos son el verde y el violeta.