

Esta reacción implica algunas dificultades ó *causas de error*. 1.º Si el reactivo está demasiado cargado de vapores nitrosos, descompone la urea y se produce un desprendimiento gaseoso que oscurece la limpieza de la reacción. 2.º Es necesario privar la orina de su albúmina, si la contiene en gran cantidad.—La antipirina da en la orina las mismas reacciones coloreadas que los pigmentos biliares; por consiguiente, es necesario asegurarse, por medio del percloruro de hierro, de que la orina no contiene antipirina. Si la contiene, se precipitará el medicamento por la solución yodoyodurada añadida en exceso. Se operará siempre con la orina filtrada.

La reacción de Gmelin puede también conseguirse filtrando la orina en papel blanco y tratando este papel, cuando aún está húmedo, por el ácido nítrico nitroso (Rosenbach).

La *tintura de yodo* (Maréchal) da con la orina icterica una coloración verde-esmeralda.

Si se mezcla (C. Paul) con una orina que contenga pigmentos biliares la solución siguiente:

Violeta de París (de metilanilina)	1 gramo
Agua	500 gramos

esta solución toma color rojo. Según Yvón, se produce una especie de laca.

Se reconocen también los pigmentos biliares con el *espectroscopio de mano* de Hayem. Toda la parte derecha del espectro queda oscura. Esta reacción caracteriza los pigmentos biliares verdaderos, pero también los pigmentos biliares anómalos, los cuales no presentan la reacción de Gmelin.

ACIDOS BILIARES.—Los ácidos biliares, ácido cólico, ácido colálico, existen en la orina bajo la forma de sales á base de sosa. Su investigación se hace por la *reacción de Pettenkofer*. Se encuentran siempre en pequeña cantidad con relación á las sales biliares.

En una copa se ponen la orina, algunas gotas de una solución de azúcar al $\frac{1}{5}$, y después un chorrito de ácido sulfúrico concentrado. Se agita con una varilla de cristal y la orina aparece primeramente violeta y después de color púrpura. Durante la reacción se produce desprendimiento de calor, que, por otra parte, es necesario. Si no fuese suficiente, convendría calentar hasta 60°.

Debe advertirse que la albúmina dificulta la reacción, y por tanto se ha de privar de ella la orina si la contiene.

UROBILINA. CROMÓGENO DE UROBILINA.—La urobilina ó hidrobilirrubina se reconoce clínicamente por dos procedimientos.

Examen espectroscópico.—Se utiliza comúnmente el pequeño espectroscopio de mano de Hayem. La orina filtrada, acidificada, es colocada en un tubo de ensayo, ó mejor en un cristizador de caras paralelas. La *urobilina* da lugar á una faja de absorción en la unión del azul y el verde. Esta faja de absorción varía según que la orina que contiene la urobilina sea ácida, ó que haya sido tratada por el cloruro de zinc amoniacal. En el primer caso, si se hacen corresponder la raya D y la división 100 del micrómetro, la faja de urobilina se encuentra próximamente en 140, extendiéndose de 135 á 148, con máxima de 138 á 145. En el segundo caso, se dirige hacia la izquierda, extendiéndose de 128 á 137, con máxima de 130 á 135. Por una y otra parte se encuentra prolongada por una sombra hasta 125 y 140.

El *cromógeno de urobilina*, urobilinógeno, no da lugar á ninguna faja de absorción. Pero se transforma en urobilina por oxidación. Basta, después de haber acidificado la orina filtrada y de haberla puesto en un cristizador de caras paralelas, tratarla por la solución yodoyodurada de Gram ¹, para ver aparecer el espectro de la urobilina. Según Deroide, la transformación se hace también bajo la influencia de la luz solar. Según este autor, es, pues, preciso recoger la orina en un vaso coloreado y conservarla al abrigo de la luz. Es además preferible, según este autor, buscar el espectro de la urobilina después de haberla extraído de la orina acidificada, agitándola con el éter acético. Entonces es este éter acético decantado el que se examina con el espectroscopio.

Procedimiento químico.—Se satura la orina por el sulfato de amoníaco, y después se filtra. El pigmento queda en el filtro. Se deseca y se le trata por el alcohol. Tratando el alcohol por la acción sucesiva del cloruro de zinc y de amoníaco, se obtiene la urobilina, reconocible por su dicroísmo; es de color rojo pálido por transmisión, con reflejos verdosos por reflexión.

Si la orina contiene á la vez *pigmentos biliares normales y urobilina*, Hayem recomienda que se coloque la orina acidulada en un tubo estrecho, vertiendo después gota á gota agua destilada que no se mezcle con la orina. Diluyéndose la urobilina más fácilmente que la bilirrubina, se encontrará el pigmento anormal en la unión de los dos líquidos.

Denigès aconseja emplear el *sulfato mercúrico* preparado según la fórmula:

¹ Líquido de Gram:

Yodo	1 gramo
Yoduro de potasio	3 gramos
Agua destilada	300 —

Óxido mercurio.	5 gramos
Acido sulfúrico.	20 cm. cúb.
Agua.	100 — —

Mézclase el ácido con el agua, añadiendo después el óxido mercurio, que se disolverá por agitación.

Se despoja así la orina de sus pigmentos biliares, sin tocar en manera alguna á la urobilina. A 10 centímetros cúbicos de orina se añaden 5 centímetros cúbicos del reactivo. Se agita y al cabo de 5 ó 6 minutos se filtra. Si el líquido se enturbia, se filtra de nuevo.

Cromógeno de urobilina. — Ya hemos visto cómo la solución yodoyodurada transforma el cromógeno en urobilina. Para aislar el cromógeno, se satura la orina por el sulfato de amoníaco, se filtra, se deseca el filtro y se le lava con éter. La solución etérea contiene todo el cromógeno y un poco de urobilina, que se arrastra agitando una ó dos veces con agua. La solución que contiene el cromógeno no da el espectro de absorción. Tratada por una pequeña cantidad de ácido nítrico, toma una coloración característica de las soluciones diluídas de urobilina.

OTROS PIGMENTOS ANÓMALOS ¹. — Las orinas llamadas hemafeicas dan con el ácido nítrico una coloración de caoba oscura (Gubler).

DOSIFICACIÓN DE LA UROBILINA.—El espectroscopio permite hacer una dosificación aproximada de la urobilina, teniendo en cuenta el espesor y la extensión de la faja de absorción. Este procedimiento puede servir á lo más para estudiar las variaciones de la urobilinuria en el curso de una misma enfermedad. La dosificación de la urobilina es un poco más exacta con el espectroscopio de espesor variable.

Para evaluar las relaciones de la urobilina con el cromógeno, se aprecia primeramente, al espectroscopio, la cantidad de urobilina contenida en la orina, y después se trata ésta por la solución yodoyodurada; entonces se puede apreciar el aumento de la faja de absorción.

2.º INVESTIGACIONES COMPLEMENTARIAS

Las investigaciones complementarias se refieren á los elementos normales que existen en la orina, y cuya dosificación puede hacerse (urea, cloruros, fosfatos, sulfatos, ácido úrico, ó en substancias anómalas reconocidas, sea por el examen químico (acetona, indican), sea por el examen

¹ Conviene considerar junto á la urobilina un pigmento particular, la *urohemato-porfirina*. Ha sido descrito por Mac Nunn con el nombre de *urohematina*, y se disuelve en el alcohol ó el éter, dando origen á soluciones rosadas con reflejos rojos ó decididamente rojos. En el espectroscopio presenta tres fajas en solución ácida y cuatro en solución alcalina. Da, como la urobilina, una hermosa fluorescencia verde en solución amoniacal zincica.

histológico (sangre, pus, mucus), ó bacteriológico (microorganismos). El microscopio, con algunos reactivos químicos, es el que finalmente permite reconocer los sedimentos cristalinos.

Antes de indicar los procedimientos de dosificación apropiados á cada uno de los elementos normales de la orina, estudiemos la manera de evaluar las substancias fijas disueltas en la orina.

Substancias fijas disueltas en la orina. — Hay un procedimiento empírico que proporciona datos sobre la cantidad de materias fijas. Consiste en multiplicar las dos últimas cifras de la densidad de la orina por un coeficiente constante de 2,33. Así se evalúa la cantidad con relación á un litro, y por un sencillo cálculo posterior, con relación á la cantidad total.

Un procedimiento más exacto consiste en evaporar una cantidad conocida de orina, que se pesa antes y después de la evaporación. La diferencia indica el peso del residuo. Yvón emplea, con este objeto, una pipeta muy exactamente graduada, de 10 centímetros cúbicos, y una cápsula de platino con su tapadera pesándolos previamente. Pesa 10 centímetros cúbicos de orina y después la evapora. Para que la operación esté al abrigo de las causas de error, es preciso practicarla á una temperatura determinada (103º próximamente) y al abrigo del polvo del aire. La cápsula debe enfriarse dentro de un vaso con ácido sulfúrico, porque el residuo es higrométrico.

Durante la evaporación, una cierta cantidad de urea se descompone y da productos volátiles que desaparecen. El ácido carbónico se desprende. El amoníaco es precipitado por el fosfato ácido de sosa, con el cual forma el fosfato doble de sosa y amoníaco.

Urea. — Se reconoce fácilmente la urea en la orina transformándola en sales bajo la influencia del ácido nítrico. Vertiendo cierta cantidad de este ácido en la orina, se forma un precipitado cristalino de nitrato de urea, que se diferencia del precipitado amorfo de la albúmina. Los cristales de nitrato de urea examinados al microscopio se presentan bajo la forma de escamas, de láminas aplanadas y algunas veces de prismas.

DOSIFICACIÓN DE LA UREA.—La dosificación de la urea se practica con el urómetro de mercurio de Yvón, ó con el aparato de Regnard. Se utiliza el hipobromito de sosa, que tiene la propiedad de descomponer en frío la urea en ácido carbónico y nitrógeno. La solución que se emplea se compone así:

Lejía de los jaboneros (D = 1,33).	50 gramos
Agua destilada.	140 —

Se añade poco á poco:

Bromo. 7 cent. cúb.

Bajo la influencia del reactivo, la urea se descompone, el ácido carbónico se combina con la sosa en exceso y el nitrógeno se desprende.

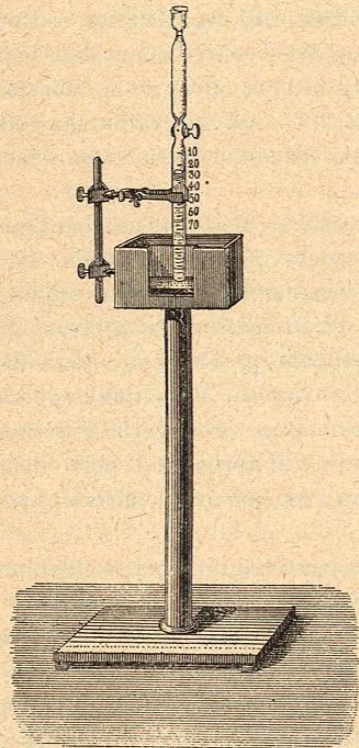


Fig. 139.—Ureómetro de mercurio de Yvón

El aparato de Regnard permite una dosificación extremadamente rápida. Se compone:

- 1.º De un tubo en V curvado en su parte media. A cada lado de la curvatura se encuentra una esfera hueca;
- 2.º De una probeta llena de agua, en la cual se sumerge una campana graduada, terminada por su parte superior en una abertura.

La rama derecha del tubo en V está cerrada por un tapón atravesado por una varilla de cristal hueca, á la cual se adapta un tubo de caucho fijado por la otra parte á la abertura de la campana graduada.

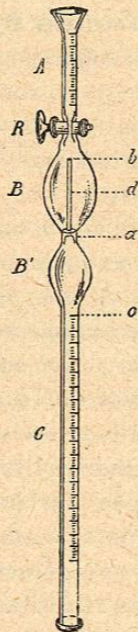


Fig. 140.—Ureómetro de agua (según Yvón)

a, raya de referencia;—*o*, principio de la graduación;—*b*, punta del tubo afilado;—*A*, medidor graduado;—*B B'*, ampollas para el aire;—*R*, llave. — *C*, tubo graduado.

La rama izquierda del tubo en V está cerrada por un tapón agujereado, por cuyo agujero pasa una pequeña varilla de cristal.

Para servirse de este aparato, se vierten próximamente 7 centímetros cúbicos de la solución de hipobromito en la rama derecha y 2 centímetros cúbicos de orina en la rama izquierda. Entonces se hace llegar el líquido de la probeta hasta cero de la campana. Para conseguirlo, se vierte en la probeta la cantidad de agua conveniente. Además se procede á retirar cuanto sea necesario la varilla de cristal del tapón que cierra la rama izquierda. Obtenido el nivel á 0º, se inclina la rama derecha del tubo, de modo que el hipobromito de sosa venga á ponerse en contacto con la orina, y se agita. Se produce la efervescencia y el líquido baja dentro de la campana. La operación ha terminado cuando ya no se desprenden burbujas de gas. Además, es necesario que la orina haya conservado el tinte amarillo del hipobromito, sin lo cual el reactivo habría sido puesto en insuficiente cantidad y sería preciso repetir la operación. Basta entonces retirar la campana lo suficiente para hacer coincidir los dos niveles del líquido. Se lee fácilmente el número de divisiones que corresponden á la cantidad de nitrógeno producido. Para conocer la cantidad de urea correspondiente, hay que saber que, según la composición de la urea, 1 centímetro cúbico de nitrógeno representa, á la temperatura de 15º, 2^{gr},562 de urea. Multiplicando por el número comprobado de divisiones de la campana, se obtendrá la cantidad de urea en 2 centímetros cúbicos de orina, y multiplicando por 500 se tendrá la cantidad por litro. Regnard ha confeccionado tablas que dan, por cada división de la campana, el número de gramos de urea por litro, según las temperaturas de 10º á 35º.

El *ureómetro de mercurio de Yvón* (fig. 139) se compone, según la descripción de este mismo autor, de un tubo de cristal de 40 centímetros de largo, que lleva en su cuarto superior una llave igualmente de cristal, y está graduado por cada lado, á partir de esta llave, en centímetros cúbicos y en décimas de centímetro cúbico. Este instrumento es sumergido en una larga probeta ensanchada en su parte superior y conteniendo mercurio. Abierta la llave, se llena el aparato. Entonces se cierra la llave y se levanta el tubo. Se puede dejarle flotar sobre el mercurio ó mantenerlo elevado mediante un soporte de pinza fijo á la probeta. De esta manera resulta una especie de barómetro truncado, en cuya cámara se podrán introducir sucesivamente diferentes líquidos, sin dejar entrar el aire. Esta maniobra es facilitada por la inmersión mayor ó menor del tubo en el mercurio ¹.

¹ Para los que no quieran servirse del mercurio, Yvón ha hecho modificar su aparato de modo que pueda operarse con agua (YVON, pág. 75).

El tubo de llave (fig. 140) está en este caso provisto de dos esferas, de las cuales B sirve de

Con este instrumento es conveniente, para evitar las correcciones de temperatura y de presión, establecer la riqueza en nitrógeno de una disolución graduada de urea, ó sea una solución conteniendo 1 centígramo de urea por 5 centímetros cúbicos de agua. Se hace una primera dosificación con esta solución graduada. Se introducen 5 centímetros cúbicos en la parte superior del ureómetro. Se abre la llave. El líquido penetra poco á poco en el tubo y el mercurio baja otro tanto. Se lava el tubo mensurador con la lejía de sosa dilatada en agua. Se reúne este líquido con el primero abriendo la llave. Después se hacen llegar 5 ó 6 centímetros cúbicos de hipobromito de sosa. Entonces se retira el instrumento del mercurio, tapándolo con la extremidad del dedo, y se agita. En seguida se le vuelve á la cubeta hasta que el líquido quede claro. El hipobromito se colorea de amarillo. Entonces se lleva el instrumento á una probeta llena de agua, y el hipobromito, más denso, sale. Se igualan los niveles y se lee.

Una vez conocido el número de divisiones de nitrógeno á que corresponde 1 centígramo de urea, se descompone 1 centígramo de orina. Previamente se diluyen 10 centímetros cúbicos de orina de modo que se obtengan 50 centímetros cúbicos, y, como en la primera operación, se operará sobre 5 centímetros cúbicos de esta solución. En lugar de dilatar con agua es más exacto dilatar con agua azucarada (25 gramos

cámara de reacción. El tubo C, destinado á medir el nitrógeno desprendido, se ensancha en B' y termina en una punta afilada *d*, que penetra en la esfera superior B. Esta última está separada por una llave R, del tubo graduado A, destinado á medir la orina y á verter el hipobromito. Los dos líquidos se mezclan en la esfera B y el nitrógeno procedente de la reacción será conducido por el tubo D á la esfera B' y rechazará el agua.

En la estrangulación que separa las dos esferas se halla trazada una línea de comprobación *a*. La graduación comienza en un punto O, colocado en la parte cilíndrica, debajo de la segunda esfera.

La capacidad de B' desde el principio *o* de la graduación hasta la raya *a*, debe ser igual á la de la esfera B hasta el plano horizontal que pasa por el punto *b* del tubo afilado.

Para comprobar el instrumento, se sumerge en una probeta llena de agua, estando abierta la llave R hasta que el nivel llegue á *a*. Entonces se cierra la llave. Se levanta el instrumento, teniéndolo bien vertical; se llena entonces de agua el tubo A y se abre lentamente la llave. El agua corre á lo largo de las paredes internas de la esfera B. A medida que la va llenando, el aire desalojado deprime el agua de la esfera B'. Cuando en la esfera B el agua ha llegado á la extremidad del tubo *d*, se escapa por su orificio *b* y desciende á la esfera inferior. Desde entonces ya no pasa más aire y el nivel permanece constante en *o*. Aquí es donde hay que colocar el *o* de la graduación.

Para servirse de este aparato, estando abierta la llave, se sumerge el instrumento en una probeta llena de agua, hasta que el nivel llegue á *a*. Se cierra la llave y se levanta el instrumento. Entonces se mide en el tubo A de 1 á 5 centímetros cúbicos de orina, según la riqueza presunta en urea, y después, abriendo lentamente la llave, se deja penetrar esta orina en la esfera B. En seguida se lava el tubo mensurador con una solución dilatada de sosa y luego se hace llegar el hipobromito. La reacción se establece en seguida y el agua es vivamente rechazada. Terminado el desprendimiento gaseoso, se vierte agua por el tubo A y se la hace llegar á la esfera B, hasta que la llene y se escape por el pequeño tubo *d*, para penetrar en la segunda esfera. La graduación ha resultado exacta. Todo el gas acumulado debajo de *o* representa el nitrógeno proveniente de la reacción.

Es necesario, antes de hacer la lectura, dejar enfriar el aparato.

por 500 de solución). Méhu ha demostrado efectivamente que la dosificación de la urea es más exacta en presencia del azúcar. Esta dilución será hasta necesaria si se dosifica la urea en una orina azucarada. Igualmente conviene depurar la orina. Entonces se añade 1 centímetro cúbico de subacetato de plomo á los 10 centímetros cúbicos de orina; se agita, se dilata con una solución de carbonato de sosa, de manera que resulten 50 centímetros cúbicos. Se agita y se filtra.

En la práctica, si la orina no ha sido depurada, tiene lugar una descomposición de las materias nitrogenadas, excepto la urea, en una proporción de 4,5 por 100. A este aumento se añade el debido á la elevación de temperatura, si previamente no se ha hecho la investigación con la solución graduada. Por otra parte, el hipobromito sólo descompone el 39 por 100 del nitrógeno contenido en la orina. Teniendo en cuenta estos resultados, Yvón concluye que cada centímetro cúbico de nitrógeno corresponde á 2,5 gramos de urea por litro. Cada una de las divisiones del aparato corresponde á 0,25 gramos por litro. Basta, pues, con dividir por 4 el número de divisiones de nitrógeno obtenido en la descomposición de un centímetro cúbico de orina. El cociente representa en gramos la cantidad de urea por litro.

Cuando la orina es albuminosa, se produce una espuma, á menudo espesa y persistente, que hace imposible la lectura del gas desprendido. Se la hace desaparecer instantáneamente introduciendo en el aparato algunas gotas de alcohol. También puede separarse la albúmina por el calor, ó por el empleo combinado del calor y del subacetato de plomo, que al mismo tiempo elimina los uratos.

Si la orina está cargada de sangre y de pus, conviene precipitarla con tres veces su volumen de alcohol de 90°, filtrar, separar el alcohol y reponer el agua, en la cual se buscará la urea.

DOSIFICACIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL.—El nitrógeno de la urea representa el 19/20 del nitrógeno total. Los otros productos nitrogenados de la orina son el ácido úrico, el ácido hipúrico, la creatina, la creatinina y la xantina.

Hay interés en conocer la relación entre el nitrógeno de la urea y el nitrógeno total (*coeficiente de utilización nitrogenada de Robin*), y en hacer la dosificación del nitrógeno total. Entre los procedimientos empleados, el de Well y Warentrap ha sido desechado por Gautier como inexacto, y el de Kjeldahl es difícil. Este último método descompone los materiales nitrogenados de la orina por una mezcla de ácido sulfúrico y de ácido fosfórico anhídrico. Denigès lo ha hecho más práctico.

Procedimiento de Kjeldahl modificado por Denigès.—En un matraz de