

## COMUNICACIONES

### Busca de los Pigmentos Biliares en la Orina

(Procedimiento de Carlos Kuhn)

POR EL DR. EMILIO DEL RASO

**BASES DEL PROCEDIMIENTO.**—Si a un líquido conteniendo pigmentos biliares en solución se agrega sulfato de cobre amoniacal, toda la bilirubina pasa al estado de biliverdina. Volviendo entonces el líquido fuertemente ácido por medio de un ácido mineral, la biliverdina se separa de sus combinaciones alcalinas o cúpricas y queda insoluble. Si en este momento, se agregan algunas gotas de tolueno y se agita fuertemente, la biliverdina sube a la superficie del líquido, arrastrada mecánicamente por el tolueno. Para caracterizarla, se vierte un poco de alcohol etílico, de manera que los líquidos queden sobrepuestos. Se obtiene de este modo, un color verde intenso en la zona de separación, color que se difunde en todo el alcohol cuando se comunican al recipiente movimientos de agitación ligeros.

**REACTIVOS.**— a) SULFATO DE COBRE AMONIAICAL

- (1) Solución acuosa de sulfato de cobre cristalizado al 5% ..... 20 c.c.  
 Amoníaco puro a 22° ..... 10 c.c.  
 Mézclese.

b) ACIDO FOSFORICO DILUIDO

- Acido fosfórico líquido a 60° ..... } P. E.  
 Agua destilada ..... }

(1) —NOTA.—La solución indicada de sulfato de cobre cristalizado a 5% es la misma que la que se usa para el licor de Fehling solución (A).

APLICACION DEL PROCEDIMIENTO A LA ORINA.—En un tubo de ensaye, se vierten veinte centímetros cúbicos de orina, y después, dos centímetros cúbicos de solución de sulfato de cobre amoniacal, los cuales se mezclan cerrando el tubo con el dedo y volteándolo. En este momento el líquido toma siempre un color verde azul debido al sulfato de cobre amoniacal. Este color es particularmente intenso en el caso de que los pigmentos biliares existan en gran cantidad; sin embargo no tiene nada característico por sí solo. No hay que fijarse en ello. Siendo inmediata la oxidación de los pigmentos biliares, se agregan luego dos centímetros cúbicos de ácido fosfórico diluido, se mezcla y después se vierten seis gotas de tolueno. Se tapa el tubo con el dedo, se agita vivamente y se deja reposar algunos instantes durante los cuales se ve las partículas insolubles subir a la superficie del líquido. Cuando están reunidas en la parte superior del tubo, y aunque quede espuma, se vierten tres o cuatro centímetros cúbicos de alcohol a 95° de manera que los líquidos queden sobrepuestos. Para esta operación es muy conveniente hacer uso de una pipeta de Pasteur provista de un bulbo (gotero). Si los pigmentos biliares existen, aunque sea en cantidad ligera, se formará rápidamente (según se vaya disolviendo la biliverdina en el alcohol) una zona verde en el límite de separación. Dicho color teñirá todo el alcohol si se comunican al tubo de ensaye ligeros movimientos de rotación los cuales repartirán, en el líquido que sobrenada, la mayor parte de la biliverdina disuelta.

Si no hay pigmentos biliares, el alcohol quedará incoloro o tomará cuanto más, una coloración rosada o gris azulado pálido. El anillo, en el límite de separación será: sea incoloro (caso lo más frecuente), sea ligeramente pardo o pardo azulado; pero no se notará ninguna zona verde franco.

EXAMEN CRITICO DEL PROCEDIMIENTO.—Para darse cuenta del valor y de la sensibilidad de este procedimiento se pueden hacer pruebas con agua u orina adicionadas de una pequeña cantidad de bilis. A falta de bilis humana, la bilis de puerco, da muy buenos resultados. Si se hacen estos ensayos comparativamente con los métodos clásicos más sensibles (reacciones de Grimbart o de Denigès) se notará que el nuevo procedimiento no les desmerece en nada en cuanto a rapidez de ejecución.

El autor ha hecho un gran número de experimentos en toda clase de orinas, normales o anormales, ictericas o no. Los resultados han sido siempre muy satisfactorios. La presencia de glucosa o de albúmina no estorba en nada la reacción; el indoxilo, la urobilina, el ácido úrico aun existiendo en fuerte proporción no disminuyen en nada su valor. Las dosis indicadas de reactivos son las que dan los mejores resultados. Se recomienda preparar estos reactivos exactamente como se indicó y medirlos bien al usarlos. Se ha notado que un defecto de ácido fosfórico hace la reacción menos neta

y sobre todo, menos característica. Un exceso de ácido le quita su sensibilidad. Se ha adoptado el uso del ácido fosfórico porque, con este ácido la separación de los pigmentos biliares al estado insoluble se hace muy bien; este cuerpo tiene además la ventaja de no coagular la albúmina. Los ácidos orgánicos separan muy poco la biliverdina de sus combinaciones; su uso no está indicado. El sulfato de cobre amoniacal es bastante inestable; conviene prepararlo por pequeñas cantidades a la vez y conservarlo en frascos bien cerrados.

Para la disolución de la biliverdina, en la segunda parte de la reacción, rechazamos el uso de alcohol adicionado de agua oxigenada. Es verdad que, de esta manera se obtienen a veces coloraciones más intensas; pero sucede también que estas coloraciones pueden presentarse en la ausencia de pigmentos biliares. Hemos notado, en cambio, que el alcohol adicionado de formol del comercio a 40% en la proporción de uno por cincuenta, da en cuanto a la biliverdina, los mismos resultados que el alcohol puro y en cambio impide las pequeñas coloraciones accesorias que puedan presentarse. En caso de duda pudiera hacerse uso de este reactivo.

EMILIO del RASO.