

*Contribución casuística sobre
el valor de una nueva prueba
de serofloculación: la prueba
del acetato de cobre* ⁽¹⁸⁾

Por los Dres.:

ALFIO PITTERA, BENJAMINO CASSIA Y SALVATORE
FERLITO

El estudio de la labilidad coloidal del suero constituye todavía en la actualidad, la investigación de laboratorio más solicitada en las indagaciones hepatofuncionales por las conocidas alteraciones de los coloides del suero en las enfermedades del hígado y, en particular en las hepatopatías crónicas.

Dichas pruebas brindan en realidad datos aproximados sobre las condiciones del parénquima hepático y tienen muy escaso valor de especificidad, pero son preferidas en la práctica común de laboratorio a otras más sensibles, pero de realización más compleja.

A estas pruebas, actualmente numerosas, se ha añadido, por los autores cubanos *Séllele* y *Frcule*, la del acetato de cobre, que corresponde al grupo de las reacciones de sero-precipitación obtenidas con sales de metales pesados (cloruro de calcio, sulfato de zinc, etc.), habiéndose encontrado por los A.A. que es particularmente sensible y de fácil ejecución.

Los conocimientos sobre el valor y el significado de la prueba son limitados.

Nguyen-The-Minh, que ha correlacionado su positividad con la hipergammaglobulinemia y la hipoalbuminemia del suero encontró en las hepabepatopatías una sensibilidad semejante a la de las reacciones de Hanger, MacLagan y Gros, con porcentajes de positividad notablemente altas en la cirrosis alcohólica y en las hepatitis virales (el 100% de los casos).

La prueba, frecuentemente muy positiva en estas afecciones, parece corresponder a la gravedad de la evolución clínica.

Negativa en tres casos de cirrosis hepática compensada; en 3 casos sobre 11 de cirrosis por etiología imprecisa, y en 2 casos sobre 14 de íctero por litiasis y en uno sobre 6 de íctero neoplásico.

En lo que se relaciona con el grupo de las enfermedades extraliepáticas sometidas a comparación, el autor encontró en 102 sujetos prueba positiva sólo

¹⁸ Reproducido de la Revista "Medicina Clínica e Sperimentale", Vol. XIV, pág. 71. (Roma, Italia).

N. (le la R. Reproducimos este artículo adaptado en una revista extranjera por el hecho de que en el mismo se aplica de modo experimental clínico un método de

diagnóstico elaborado por dos compatriotas nuestros, reafirmando el indiscutible valor que el mismo ha aportado al reconocimiento de las hepabepatopatías. (Director: Prof. S. Signorelli).

en 4 pacientes afectos de tuberculosis cavitaria, en 2 casos con abscesos pulmonares y en uno con hígado cardíaco crónico ya irreductible y evolucionando hacia una cirrosis.

Teniendo como base estas premisas que documentan la elevada sensibilidad de esta prueba en las enfermedades del hígado, hemos considerado útil, debido a las escasas contribuciones que hay en la literatura, estudiar su comportamiento en una casuística de pacientes hepáticos, comparándola con otras pruebas de serolabilidad coloidal, ya clásicas, y con otras pruebas hepatofuncionales más sensibles y más rigurosamente específicas, con la finalidad de precisar el valor y el significado clínico de la prueba del acetato de cobre en el diagnóstico de las enfermedades del hígado.

METODOLOGIA

El reactivo está representado por una solución de acetato de cobre, obtenida por la dilución de 200 ingr. del producto químicamente puro en 500 mi. de agua bidestilada. La solución para realizar la prueba se prepara diluyendo 2.5 mi. de la solución original en 97.5 mi. de agua bidestilada. Las dos soluciones son estables y se conservan durante largo tiempo si se mantienen en refrigeración.

N. de la R.— Los mejores resultados se obtienen preparando la solución reactivo en el momento de usarse.

El procedimiento para preparar la reacción es completamente sencillo. A 6 mi. del reactivo colocado en un tubo de ensayo perfectamente limpio se añaden 0.1 mi. de suero fresco del paciente, sin trazas de hemólisis: se agita ligeramente la mezcla y se leen los resultados cinco a diez minutos después.

Si el líquido permanece límpido o presenta un débil opacamiento sin trazas

de floculación, la reacción puede considerarse negativa. Se acepta como positiva desde el momento en que el líquido presente un grado variable de floculación, que se expresa, según la intensidad, con +, ++, + + +, + + + +.

En los casos muy positivos la floculación es inmediata, y en la solución que se ha dejado a una temperatura ambiente por 12 a 18 horas, se determina una precipitación con el líquido que permanece arriba en estado transparente.

CASUISTICA

La prueba del acetato de cobre se ha realizado, según el procedimiento descrito, en 204 muestras de suero tomadas de pacientes afectados por los siguientes procesos morbosos:

1. Hepatitis y hepatocolangitis en fase aguda	55
2. Atrofia amarilla aguda	04
3. Hepatitis y hepatocolangitis en estado de resolución	24
4. Ictero colostático de diversa patogenia	26
5. Hepatitis crónicas	8
6. Cirrosis hepática	10
7. Hepatopatías secundarias	30
8. Ictero hemolítico	6
9. Enfermedades extrahepáticas ..	41

Las pruebas de serolabilidad (enturbiamiento, floculación y precipitación), al ser comparadas, han sido escogidas entre aquellas cuyo significado se identifica, presumiblemente, con el que se proyectó para la prueba del acetato de cobre (*Nguyen-The-Minh*). Estas pruebas son: *Hanger, MacLagan, Ducci, Mallen, Wundetrly y Closs* al ácido sulfa-nílico.

En todos los casos sometidos a examen se evaluó la eficiencia de la función hepática mediante un grupo de pruebas

seleccionadas entre las más sensibles al igual que la dosificación (de algunas enzimas del suero (procarinoesterasas, colinoesterasas, actividad quinino-oxidásica) de la sideremia y en algunos casos dudosos, la prueba de la bromosulfaleína realizada calculando el índice de retención en el suero de dicho colorante. En las hepatopatías icterígenas, la investigación ha sido completada mediante la dosificación fraccionada de la bilirrubina del suero. Otros exámenes realizados según la necesidad de la documentación para la casuística han sido la dosificación de la trasaminasemia para la discriminación de las hepatitis virales, la prueba de Jirgl para el diagnóstico diferencial de los icteros colostáticos de los hepato-celulales y, en definitiva, el estudio electroforético de las proteínas del suero,

RESULTADOS

Hepatitis y hepatocolangitis.—En la fase del acné y del estado de estas afecciones, representada en nuestra casuística por veinte y una hepatitis de tipo viral, cuarenta y cinco hepatocolangitis infecciosas y dos hepatitis tóxicas, la prueba se consideró positiva en la totalidad de los casos y muy frecuentemente representó una serofloculación marcada.

Al compararla con otras pruebas de labilidad serocoloidal, la prueba del acetato de cobre acusa una frecuencia de positividad similar a las demás. Se diferencia de éstas por una frecuencia mayor de resultados positivos en gran manera, presentando un comportamiento semejante al de la reacción del cadmio.

Se observa un resultado positivo en absoluto y de alto grado en los cuatro casos de atrofia amarilla aguda.

En la fase de resolución clínica de estas afecciones, los resultados positivos del acetato de cobre disminuyen con

siderablemente; la reacción se manifiesta solamente por una moderada serofloculación; sólo en pocos casos se revelan resultados positivos en su grado máximo propios del acmé de las hepatitis.

Las demás pruebas presentan un comportamiento semejante. La prueba del acetato de cobre al igual que las reacciones de *Mullen, Wundcrly, Closs, Mac Lagan*, se normaliza tardíamente, mientras que la prueba de Hanger y Ducci mantienen relaciones más estrechas con la evolución clínica del proceso nosológico.

En los icteros colostáticos, la prueba del acetato de cobre resulta negativa en grandes porcentajes de casos. Solamente en el treinta y uno por ciento de los pacientes que fueron examinados, la prueba resultó positiva con una ligera serofloculación.

En estas afecciones, el comportamiento del acetato de cobre puede superponerse al de la reacción de Hanger y la reacción es positiva en aquellos casos en los cuales puede demostrarse la presencia de un daño hepático por muy reducido que éste sea. Las demás pruebas presentan porcentajes más elevados que frecuentemente se hallan en desacuerdo con las otras. No hemos podido observar relación alguna entre el comportamiento del acetato de cobre y la patogenia del estasis biliar.

En las hepatopatías a curso crónico, como las hepatitis crónicas y la cirrosis hepática, los resultados positivos del acetato de cobre han sido absolutos (el cien por ciento de los casos). Similar comportamiento ofrecen las demás pruebas, ya sea en cuanto se relaciona a la frecuencia o al grado de los resultados positivos. Aunque en este grupo de pacientes se observa una rigurosa con

cordancia entre los resultados de la prueba del acetato de cobre, de la reacción de *Hanger* y de las condiciones reales hepáticas. Mucho más frecuentemente, por el contrario, las otras pruebas de serolabilidad, por comparación, demuestran resultados altamente positivos, aún cuando el examen clínico y las demás pruebas hepatofuncionales denuncian solamente un moderado daño hepático.

En las hepatopatías secundarias a procesos morbosos diversos la prueba del acetato de cobre ha evidenciado un estado discoloidal del suero solamente en el cuarenta y cuatro por ciento de los pacientes, con un comportamiento semejante al de las pruebas de *Mac Logan y Ducci*. Solamente en pocos pacientes estas pruebas han resultado altamente positivas.

En seis pacientes con síndrome hemolítico y leve signo de daño hepático la prueba presentó sólo una ligera serofloculación.

De cuarenta y un pacientes afectos por procesos morbosos diversos, sin signos de daño hepático y con disprotidemia de diverso tipo, la prueba ha sido positiva solamente en doce pacientes, y de éstos, tres con tuberculosis pulmonar, dos con neoplasia del estómago, uno con colitis úlcerohemorrágica, y dos con mielopatía aregenerativa. En todos estos casos la positividad de la prueba ha estado representada solamente por una ligera serofloculación. Porcentajes de positividad notablemente más elevados han sido encontrados a la inversa con las otras pruebas por comparación.

No se han manifestado diferencias en el comportamiento del acetato de cobre en las hepatopatías icterígenas con relación a las anictéricas ni relación alguna entre la tasa de la bilirrubina del suero y el grado de serofloculación de la prueba en las

hepatopatías con íctero. Se ha encontrado, por el contrario, una diferencia neta en la repuesta del acetato de cobre en los ícteros colostáticos y en el grupo de las hepatopatías secundarias en relación a las primitivas.

DISCUSION Y CONCLUSION

La prueba del acetato de cobre resulta altamente positiva en las hepatopatías primitivas, ya sean de curso agudo o crónico, mientras que es negativa en la mayor parte de los pacientes con íctero colostático. En este último grupo de pacientes, la prueba da resultados positivos, de hecho, solamente en el treinta y uno por ciento de los casos, y la reacción se manifiesta solamente por una ligera serofloculación, contrariamente a cuanto resulta en los ícteros hepatocelulares y hepatocolangíticos en los cuales, por igual, la reacción es frecuentemente marcada. Este comportamiento diverso, ya destacado por *Nguyen-The-Minh*, que encuentra su verificación solamente en la reacción de *Hanger*, puede ser útilmente aprovechado, si se confirma mediante otras pruebas rigurosamente específicas (prueba de *Jirgl*, fosfatemia alcalina), para el diagnóstico diferencial de los ícteros colostáticos de los hepatocelulares. Bajos porcentajes de resultados positivos del acetato de cobre se pueden observar aún en los pacientes con daño hepático secundario y en el 18% de los pacientes de casuística varia con disprotidemia de génesis extrahepática.

Se observa, por lo tanto, que la repuesta de la prueba del acetato de cobre está condicionada, ya sea por cuanto se relaciona con la frecuencia como por cuanto al grado de los resultados positivos al daño hepático, a quien parece relacionarse el significado de la prueba misma. Esta relación viene confirmada por la comparación entre el comporta

miento de la prueba del acetato de cobre y la repuesta de las otras pruebas hepato-funcionales, enzimograma del suero, actividad quinino oxidásica, B. S.F., etc.

En un alto porcentaje de caeos se observa, realmente, una concordancia de resultados entre la repuesta de esta prueba y la importancia de daño hepático valorado clínicamente o mediante los exámenes de laboratorio. Esta correlación es más moderada para las otras pruebas de serolabilidad por comparación, a excepción de la reacción de Hanger que representa la prueba que más se avvicina a la del acetato de cobre. Una ulterior confirmación nos es dada por la baja frecuencia con que la prueba re baila positiva en los pacientes con disprotidemia extrahepática.

En comparación con las demás pruebas de serolabilidad estudiadas, la prueba del acetato de cobre presenta diferencias sensibles en la frecuencia de los resultados positivos absolutos, solamente en las hepatitis y en las hepato-colangitis en resolución clínica, en los icteros colostáticos y en las enfermedades extrahepáticas. En las primeras la reacción de Hanger representa la prueba que se normaliza rápidamente; el acetato de cobre, a semejanza de las otras pruebas, mantiene por más largo tiempo un resultado positivo ligero. En la colestasis, la prueba del acetato de cobre y la del cefalinacoesterol son las que responden más a las condiciones reales hepáticas. En la disprotidemia por génesis extrahepática, el acetato de cobre representa, de acuerdo a cuanto se ha manifestado por otros A.A., la prueba que más raramente llega a ser positiva y es, por lo tanto, digna de consideración, con respecto a las demás, ya que está dotada de una más rigurosa especificidad.

Diferencias más sensibles se obtienen, por el contrario, de la evaluación comparativa de la sensibilidad mostrada por cada prueba en particular. El acetato de cobre, junto a la de Hanger, se presenta como la prueba más sensible y más estrechamente relacionada a la función hepática. Esta prueba, además, asocia a la elevada sensibilidad una estrecha especificidad en la investigación de las enfermedades del hígado, superior, inclusive, a aquella poseída por la reacción de Hanger.

Acerca del mecanismo de la serofloculación en la reacción del acetato de cobre, podemos expresar un juicio preciso, a pesar de concordar con los A.A. (Sellek y del Frade, Nguyen-TheMinh), sobre la frecuente observación de hipoalbuminemia e hipergammaglobulinemia en los sueros de acetato de cobre positivos.

En los casos estudiados por la dosificación de las proteínas del suero, hemos observado, en realidad, como el resultado positivo del suero al acetato de cobre, corresponde frecuentemente a una condición de hipoalbuminemia. No resulta evidente, sin embargo, alguna correlación entre el grado de la serofloculación y la reducción de las albúminas del suero. Por otra parte, las relaciones inconstantes con la globulina, inclusive frecuentemente de la hipoalbuminemia, se asocia una hipergammaglobulinemia. Casi con evidente aumento de las gammaglobulinas pueden corresponder al acetato de cobre negativo. Aunque el aumento de las otras fracciones de globulina no parecen determinar la serofloculación del acetato de cobre similares consideraciones para la relación albúmina-globulina puedan hacerse, por cuanto en la mayor parte de nuestros casos se ha reducido.

Por tanto, de acuerdo con los demás A.A. (Sellek y del Frade, Nguyen-The-

Minh), opinamos que, si bien una cierta importancia se puede atribuir a la hiper-gammaglobulinemia en la determinación de la serofloculación, ésta parece condicionada por otros factores que en el estado actual de las investigaciones no es posible determinar con precisión.

Por cuanto hay una verdadera ausencia de elementos precisos sobre el significado biológico de esta prueba, los resultados de nuestras investigaciones, en correspondencia con las de *Sellek* y del *Frade y Nguyen-The-Minh*, confirman el valor clínico de esta prueba que puede ser incluida entre las pruebas de funcionalidad hepáticas más sensibles, capaz de expresar con suficiente precisión las condiciones reales del parénquima hepático, mientras que la mayor parte de las demás pruebas de serolabilidad coloidal proveen resultados no siempre esperados, limitados como lo están en nuestras investigaciones hepatofuncio-

11a les por una moderada sensibilidad y por una escasa especificidad.

RESUMEN

Los autores han estudiado la serofloculación al acetato de cobre comparativamente con un grupo de pruebas de serolabilidad coloidal de uso corriente y con otros tests hepatofuncionales, en una casuística compuesta de 204 enfermos del hígado con la finalidad de precisar su valor clínico en el diagnóstico de las hepatopatías.

Aún careciendo de elementos para establecer el significado biológico, los autores han podido observar en esta prueba una estrecha concordancia de resultados con las otras pruebas hepatofuncionales efectuadas y una especificidad más neta respecto a otras pruebas de serolabilidad. La reacción de Hanger es la que da resultados más en concordancia con los que ofrece la prueba del acetato de cobre.

SUMMARY

Clinical evaluation of a new serofloculation reaction: the copper acetate test (on the basis of cases series).

The authors have studied the serum flocculation with copper acetate in comparison with a group of routine test for serum colloidal lability and liver function, in a series of 204 patients, with a view to establish its clinical value in the diagnosis of liver diseases. Although the biological significance of the test remains as yet obscure, the authors could notice that its results closely agree with those of the liver function tests and exhibit a more marked specificity in comparison with other serum lability tests. The best agreement was found between Hanger reaction and copper acetate.

RESUME

Contribution d'une série de cas touchant la valeur clinique d'une nouvelle réaction de séro-floculation: l'épreuve à l'acetate de cuivre.

Les auteurs ont étudié la séro-floculation à l'acetate de cuivre comparativement à un groupe d'épreuves de séro-labilité colloïdale d'usage courant et à d'autres tests hépatofonctionnels, chez 204 malades du foie, dans le but de préciser sa valeur clinique dans la diagnose des hépatopathies. Tout en n'ayant pas d'éléments pour en établir la signification biologique, les auteurs ont pu constater par cette épreuve une étroite concordance de résultats avec les autres tests hépatofonctionnels essayés et une spécificité plus nette vis-à-vis des autres épreuves de séro-labilité. La réaction de Hanger est celle qui fournit des résultats qui concordent le plus avec ceux offerts par le test à l'acetate de cuivre.

ZUSAMENFASSUNG

Ein Kasuistischer Beitrag zum klinischen Wert einer neuen Serumflockungsreaktion: der Kupferazetat-Test.

Bei einem Krankengut von 204 Leberpatienten haben die Verfasser die Serumflockungsreaktion mit Kupferazetat mit einer Gruppe von Kolloid-Serumlabilitätsreaktionen sowie mit anderen Leberfunktions tests verglichen, um so deren klinischen Wert bei der

Diagnose der Leberkrankheiten genau abzuklären. Obgleich keine Elemente zur Feststellung der biologischen Bedeutung zur Hand liegen. Konnten die Verfasser mit diesem Test eine strenge Übereinstimmung der Ergebnisse mit den anderen angewandten Leberfunktionsproben und eine eindeutige Spezifität im Vergleich mit den anderen Serumlabilitätsreaktionen feststellen. Der Hanger-Test liefert die Ergebnisse, die am besten mit denjenigen des oben genannten Tests (T.A.R.) übereinstimmen.

BIBLIOGRAFIA

1. —Closs, K.: New liver-function test. *Lancet*, 1: 910, 1954.
2. —Ducci, H.: The colloidal red test for the study of hepatic dysfunction. *J. Lab. and Clin. Med.* 32: 1271, 1947.
3. —Hanger, F. M.: Serological differentiation of obstructive from hepatogenous jaundice by flocculation of cephalin-cholesterol emulsion. *J. Clin. Inv.* 18: 261, 1939.
4. —Mullen, M. S.; Lozano, E.; Ugalde, M. y cols.: Precipitation of abnormal serums by Lugol solution. *Am. J. Clin. Path.* 20: 30, 1950.
5. —MacLagan, N. F.: The thymol turbidity test as an indicator of liver dysfunction. *Brit. J. Ex. Path.* 25: 234, 1944.
6. —Nguyen-The-Minh: La réaction à l'acetate de cuivre de Sellek-Frade. Son utilité dans les affections hépatiques. *Presse Med.* 68: 1256, 1960.
7. —Nguyen-The-Minh: La réaction à l'acetate de cuivre de Sellek-Frade. Son utilité dans les affections hépatiques. *II Regato*, 7: 149, 1961.
8. —Sellek, A. y del Frade, A.: La serorreacción de turbidez y floculación del acetato de cobre en el diagnóstico de las afecciones hepáticas. Prueba Standard, Cuantitativa y Ultramicrométodo. *Revista Cu baña de Laboratorio Clínico*, 11: 55, 1957.
9. —Wuhrman, F. and Wunderly, C.: Die Bluteiweisskörper des Menschen. Benno Schwabe and Co., Basel, 1947.