

Istituto Nazionale delle Assicurazioni  
DIREZIONE GENERALE  
ISPETTORATO GENERALE SANITARIO

---

---

# GUIDA

ALLE

# Ricerche di Laboratorio

PER USO DEI CENTRI SANITARI DELL'I. N. A.

TIPOGRAFIA F. CENTENARI  
(Società Anonima)  
ROMA 1941-XIX



Corporate Heritage  
& Historical Archive



Istituto Nazionale delle Assicurazioni  
DIREZIONE GENERALE  
ISPETTORATO GENERALE SANITARIO

---

# GUIDA

ALLE

# Ricerche di Laboratorio

PER USO DEI CENTRI SANITARI DELL'I. N. A.

TIPOGRAFIA F. CENTENARI  
(Società Anonima)  
ROMA 1941-XIX



Corporate Heritage  
& Historical Archive



# ESAMI CHIMICI E SIEROLOGICI

(Dr. M. Biásiotti e † Dr. G. Restivo)

Medici di Direzione I. N. A.



Corporate Heritage  
& Historical Archive



## I. - RICERCHE SUL SANGUE

### ACCORGIMENTI DI TECNICA

1. *Vetreteria.* — E' della massima importanza che tutta la vetreria usata nel laboratorio venga accuratamente pulita per allontanare le tracce di sostanze in precedenza contenutevi e, nel caso delle pipette e delle burette, per sgrassare bene la parete interna onde evitare la formazione di goccioline delle soluzioni in esse misurate che ferman-dosi sulla parete causerebbero errori di calcolo a volte gravi, specie nei micrometodi.

All'uopo la vetreria va prima lavata in acqua corrente, e poi con acqua calda contenente in soluzione circa il 5% di liscivia di soda; dopo viene riasciacquata in acqua di fonte e passata per cinque minuti in una miscela Solfo-Cromica la quale serve a distruggere qualsiasi traccia di sostanza organica presente. Questo lavaggio è indispensabile per la vetreria usata in chimica, nelle prove di titolazione, mentre per la vetreria usata in sierologia si deve fare solo il lavaggio con acqua calda ed acqua distillata evitando l'impiego di acidi.

La miscela Solfo-Cromica va preparata nel modo seguente: in una bevuta da 500 cc. si mettono gr. 10 di bicromato di potassio; a questa si aggiungono 200 cc. di acido solforico commerciale e si agita con una bacchetta di vetro. Si forma così un liquido sciropposo colore arancione scuro. Per l'uso questo va diluito con 50 cc. di acqua semplice, aggiungendo la miscela all'acqua contenuta in un becker immerso in acqua fredda, giacchè la diluizione produce intenso calore. Questa soluzione è molto caustica e bisogna essere prudenti nell'adoperarla.

Dopo la detersione con la miscela Solfo-Cromica la vetreria va lavata con acqua corrente e infine riasciacquata in acqua distillata e messa ad asciugare.

2. *Sterilizzazione.* — La sterilizzazione della vetreria da usare in sierologia (provette, matracci, pipette) e per il prelevamento del sangue (provette, siringhe) e degli aghi va fatta al calore secco, in stufa elettrica od a gas.

Prima della sterilizzazione le provette, i matracci, ecc., saranno tappati con batuffoli di cotone grezzo (cioè non digrassato e perciò *non idrofilo*), mediocrementemente pressati e foggiate a turacciolo; le siringhe e le capsule di Petri saranno avvolte in carta da filtro. Per ottenere un'ottima sterilizzazione occorre mantenere il materiale per un'ora in stufa alla temperatura di 150-160° o se si vuol guadagnare tempo per mezz'ora a 180°. Passato il tempo di sterilizzazione si spegne e si apre la stufa solo quando è quasi completamente raffreddata, ciò per evitare rotture della vetreria per effetto di un raffreddamento troppo brusco.

3. *Preparazione delle soluzioni.* — Anzitutto bisogna conservare le sostanze chimiche in barattoli ben chiusi e posti in luoghi asciutti e al fresco.

Accertarsi che i prodotti chimici al momento di fare le pesate siano ben asciutti e se occorre disseccarli nella stufa a secco a bassa temperatura (60° C.) o in un essiccatore fino al peso costante con due pesate alla distanza di un'ora.

Avere la massima cura nella preparazione delle soluzioni titolate badando che la temperatura delle soluzioni sia uguale a quella segnata sul matraccino tarato (a +15° C.) e a (20° C.). Le soluzioni vanno tenute in recipienti ben chiusi e al fresco.

Nel pipettare piccole quantità di soluzioni, lavare bene la pipetta con acqua distillata, ed aggiungere l'acqua di lavaggio al resto della soluzione, per poter raccogliere i residui rimasti per capillarità aderenti alla parete interna della pipetta.

#### A) PREPARAZIONE DELLE SOLUZIONI SATURE

Si mette in un becker dell'acqua distillata in quantità leggermente superiore al volume della soluzione richiesta. Si mette questa sulla fiamma, interponendo una rete metallica e si scalda fino all'ebullizione, indi si spegne la fiamma e si aggiunge la sostanza in piccole quantità alla volta, agitando continuamente con una bacchetta di vetro finché rimane della sostanza indisciolta, al fondo del becker anche dopo un minuto di agitazione. Si lascia raffreddare e appena fredda si filtra, conservando il filtrato in bottiglia.

#### B) PREPARAZIONE DELLE SOLUZIONI TITOLATE

In un matraccio tarato per il volume della soluzione voluta si mette la quantità di sostanza esattamente pesata, assicurandosi di non aver lasciate tracce di essa nel recipiente che ha servito per la pesata (vetro

d'orologio, capsula), si aggiunge poi acqua distillata per 2/3 del volume del recipiente e si tappa. Si agita sino a soluzione completa della sostanza contenuta e poi si aggiunge acqua distillata finchè il menisco inferiore del liquido raggiunge il segno sul collo del matraccio. Prima di fare ciò occorre accertarsi che la temperatura della soluzione sia uguale a quella segnata nel matraccio stesso (15° C. o + 20° C.) scaldando o raffreddando se occorre.

### C) PREPARAZIONE DELLE DILUIZIONI DI ACIDO SOLFORICO

E' indispensabile nella diluizione dell'acido solforico concentrato che questo venga versato nell'acqua lentamente; mai fare il contrario, cioè versare l'acqua nell'acido, perchè ne seguirebbe una violenta reazione con sviluppo di enorme calore e conseguente scoppio.

Ecco come si procede per fare 100 cc. di una soluzione al 20% di acido solforico: in un bicchiere da 100 cc. si mettono 50 cc. circa di acqua distillata, misurata con un comune cilindro graduato e si pone il bicchiere in una vaschetta contenente acqua fredda. Si misura in un cilindretto graduato 20 cc. di acido solforico concentrato, si versa lentamente nell'acqua mescolando continuamente con l'uso di una bacchetta di vetro. Appena fredda si versa la soluzione di acido in un matraccio tarato da 100 cc. con circa 20 cc. di acqua usando la spruzzetta; si lava il bicchiere e si versa l'acqua di lavaggio nel matraccio e si aggiunge acqua distillata fino a livello.

D) Per gli altri acidi liquidi non occorre questa cautela; si procede come è spiegato al numero 2, misurando accuratamente con pipette o burette il volume richiesto di acido e portando al volume con acqua distillata.

## GLICEMIA

### a) Micrometodo di Bang

Tasso glicemico normale da gr. 0,70 a gr. 1,20 per mille.

Soluzioni occorrenti:

#### I. *Soluzione Dealbuminizzante.*

In un matraccio da 1 litro si mette:

soluzione satura di cloruro di potassio purissimo cc. 650 (V. P. 2);

» di acetato uranile all'1,5 % cc. 100;

» di acido cloridrico al 25 % cc. 0,75;

» di acido acetico al 4 % cc. 1,25.

Si agita e si aggiunge lentamente acqua distillata purissima fino al volume di cc. 1000.

## 2. *Soluzione alcalina.*

In un matraccio tarato da 1 litro si mette:

Carbonato di potassio gr. 75;  
Sale di Seignette gr. 20;  
Acqua distillata cc. 800 circa.

Si tappa e si agita fino a soluzione completa e poi si porta al volume di 1 litro di acqua distillata.

## 3. *Soluzione Cupro-Iodica.*

In un matraccio tarato da 500 cc. si mette:

Soluzione N/10 di iodato di potassio cc. 50;  
Solfato di rame cristallizzato gr. 1,25;  
Acido solforico al 20% cc. 5;  
Acqua distillata cc. 400 circa.

Si tappa, si agita fino a soluzione completa e poi si porta al volume di 500 cc. di acqua distillata.

(La soluzione N/10 di iodato di potassio si ottiene sciogliendo gr. 3,567 di iodato di potassio e 20 cc. di acido solforico al 20% in acqua distillata e portando a un litro, in un matraccio tarato).

Più facilmente si ottiene la soluzione titolata Cupro-Iodica usando le fiale preparate di Fixanal che contengono tutti gli ingredienti necessari, sciogliendo il contenuto di una fiala in acqua distillata e portando al volume di un litro. Si badi bene di non perdere traccia del contenuto delle fiale facendo ripetuti lavaggi delle fiale stesse con la spruzzetta e unendo l'acqua di lavaggio al resto, prima di portare al volume in un matraccio tarato, si ottiene così la soluzione Cupro-Iodica pronta all'uso.

4. *Soluzione di acido Solforico al 20%.*
5. *Soluzione di Ioduro di Potassio al 5%.*
6. *Salda d'amido all' 1%.*
7. *Soluzione al N/10 di Iposolfito di Sodio.*

Si scioglie una fiala già preparata di Fixanal oppure gr. 24,80 di sale anidro in acqua distillata, si porta a 1000 cc. in un matraccio tarato, Per l'uso la soluzione N. 10 va diluita 10 volte con acqua distillata per avere la soluzione al N/100, cioè 10 cc. di soluzione N. 10 si mettono in un matraccio tarato da 100 cc. e si porta al volume con acqua distillata. Questa soluzione va tenuta al fresco possibilmente in ghiacciaia perchè facilmente alterabile specie d'estate, e va rinnovata almeno una volta al mese.

*Tecnica.* — Con una micropipetta si preleva 1/10 cc. di sangue dal dito della persona e si versa in un tubo da centrifuga contenente 6,50 cc. di soluzione dealbuminizzante, lavando la pipetta con il liquido della stessa provetta.

Si lascia a se per due-quattro ore, si centrifuga e si decanta il liquido limpido in un palloncino da 100 cc. Si aggiungano altri 6,5 cc. di soluzione dealbuminizzante al residuo della provetta da centrifuga e dopo agitazione del contenuto con una bacchetta di vetro, si centrifuga di nuovo, unendo il liquido chiaro al primo decantato. A questo si aggiungono 2 cc. di soluzione Cupro-Iodica, 2 cc. di soluzione alcalina e si fa bollire in corrente di vapore per 4 minuti, facendo pescare l'oliva forata del bollitore nel liquido.

Negli ultimi 15 secondi di ebollizione si aggiungono 2 cc. di soluzione di acido solforico al 20%, lavando subito con acqua distillata, mediante una spruzzetta, l'oliva forata che pesca nel liquido, facendo cadere l'acqua di lavaggio nel palloncino.

A questo punto si deve allestire una prova a vuoto, senza sangue, per potere titolare la soluzione N/100 di Iposolfito Sodico.

Si procede nel modo seguente:

In un palloncino da glicemia si mettono 13 cc. di soluzione dealbuminizzante, 2 cc. di soluzione Cupro-Iodica, 2 cc. di soluzione alcalina e si fa bollire in corrente di vapore per 4 minuti, indi si aggiungono 2 cc. di acido solforico al 20%, si lava l'oliva forata con la spruzzetta e dopo raffreddamento si aggiungono 0,5 cc. di soluzione di Ioduro Potassico al 5%, 2-3 gocce di Salda d'amido.

In questo pallone si fa cadere a gocce la soluzione N/100 di iposolfito sodico, contenuta in una microburetta, agitando con un movimento di rotazione impresso al palloncino, dopo l'aggiunta di ciascuna goccia, specie verso la fine, e cessando appena l'ultima goccia di iposolfito fa scomparire la lieve colorazione violacea del liquido.

Se la soluzione è ben fatta, occorreranno esattamente 2 cc. di questa soluzione N/100 di Iposolfito Sodico. Si può tollerare un titolo non inferiore a 1,95 cc. e non superiore a 2,05 cc., altrimenti bisogna rifare la soluzione per avere il titolo richiesto, ripetendo la prova su descritta.

Trovato il titolo giusto della soluzione N/100 di iposolfito per esempio: 1,98 cc. si utilizza questa per la prova col sangue.

All'uopo, al palloncino con il sangue, già raffreddato, si aggiunge 1/2 cc. di soluzione di Ioduro di Potassio e 2-3 gocce di salda d'amido; e poi si fa cadere la soluzione N/100 di Iposolfito Sodico contenuta nella microburetta come già descritto per la prova a vuoto. Si segna la quantità usata per fare scomparire la colorazione violacea.

La differenza tra il numero di cc. della soluzione di iposolfito sodico N/100 usati nella prova a vuoto meno quelli usati nelle prove

col sangue viene divisa per il numero fisso 0,28 e ci dà il tasso di glucosio per mille nel sangue.

*Esempio:*

usati nella prova a vuoto 1,98 cc. di soluzione N/100;  
usati nella prova col sangue 1,70 cc. di soluzione.

$$1,98 - 1,70 = 0,28 \frac{0,28}{0,28} = 1 \text{‰}$$

## b) Metodo di Meyers e Bailey

*Principio del metodo.* — Il sangue, diluito con acqua distillata, viene addizionato ad una certa quantità di acido picrico in polvere: si ottiene così la precipitazione dell'albumina che viene eliminata col filtraggio o con la centrifugazione; al filtrato si aggiunge carbonato sodico e si riscalda. Si ottiene così la riduzione dell'acido picrico in acido picranico con conseguente comparsa di un colore rosso bruno più o meno intenso che viene misurato col colorimetro.

*Tecnica.* — Il sangue viene reso incoagulabile con aggiunta di ossalato di sodio o meglio di fluoruro di sodio che oltre ad impedire la coagulazione ritarda la glicolisi spontanea.

A cc. 2 o 4 di sangue si aggiungono rispettivamente 8 o 16 cc. di acqua distillata; al sangue così laccato si aggiunge una piccola quantità di acido picrico in polvere, sbattendo a lungo con una bacchettina di vetro finché il miscuglio non assume una tinta gialla uniforme.

### *Filtrare o centrifugare.*

Poi mettere in un tubo A cc. 3 di soluzione standard di glucosio (composta di soluzione satura di acido picrico gr. 100, glucosio gr. 0,02).

Mettere in un tubo B cc. 3 del liquido filtrato limpido ottenuto dalla saturazione con acido picrico e filtrazione del sangue in esame; aggiungere a ciascun tubo 1 cc. di soluzione al 20 % di carbonato di sodio e far bollire a bagnomaria per 20'. A seconda della maggiore o minore quantità di glucosio per la trasformazione dell'acido picrico in acido picranico il liquido giallo assume un colore rosso-bruno più o meno intenso. Si raffreddano i tubi in acqua fredda e poi si diluisce con acqua distillata il tubo campione fino a 10 cc. ed il tubo col sangue in esame fino ad ottenere approssimativamente la stessa tinta del tubo campione.

Misurare col colorimetro di Dubosecq mettendo a 10 il nonio della vaschetta contenente la soluzione campione e spostando poi il nonio

della vaschetta contenente il sangue in esame fino ad ottenere uguaglianza di tinta nelle due metà del campo.

Il calcolo si fa moltiplicando 10 per la diluizione del sangue in esame e dividendo il risultato per la cifra di lettura del colorimetro.

*Esempio 1°):*

$$\frac{10 \times 10 \text{ cc.}}{7,8} \text{ (diluizione del filtrato di sangue in esame)} = \frac{100}{78} = 1,27$$

(cifra di lettura del colorimetro)

*Esempio 2°):*

$$\frac{10 \times 15 \text{ cc.}}{6} = \frac{150}{60} = 2,50$$

*Esempio 3°):*

$$\frac{10 \times 20 \text{ cc.}}{8,7} = \frac{200}{87} = 2,42$$

## AZOTEMIA

### Metodo di Ambard

Tasso normale: 0,30 - 0,50 per mille

Soluzioni necessarie:

1. Acido tricloroacetico al 20 %;
2. Liscivia di soda al 20 %;
3. Fenolftaleina - Soluzione alcoolica all'1 per mille;
4. Soluzione di ipobromito di sodio.

#### *Preparazione della soluzione di ipobromito di sodio*

Si pesano gr. 8 di soda caustica che si mettono in un bicchiere e si aggiungono 100 cc. di acqua distillata. Si immerge il bicchiere nell'acqua fredda contenuta in una capsula, perchè la soluzione della soda nell'acqua produce molto calore. Si agita con una bacchetta il contenuto del bicchiere, fino a soluzione completa della soda caustica.

Si misurano in un cilindretto 2,5 cc. di Bromo (sotto la cappa o all'aperto badando di non respirare i vapori di Bromo, assai tossici) che si versano lentamente nella soluzione di soda completamente raffreddata, agitando continuamente con la bacchetta. Si ottiene così una soluzione giallognola un po' torbida che si filtra attraverso lana di amianto o di vetro. Si conserva il filtrato in una bottiglia colorata e al fresco. Si rinnova ogni 8-10 giorni.

*Tecnica.* — I risultati sono tanto più attendibili quanto più grande è la quantità di siero usato (mai meno di 4 cc.).

E' necessario d'estate, per evitare cause d'errore, fare tutti i giorni una prova di controllo usando una soluzione Standard di Urea all' 1 per mille, tenuta in ghiacciaia e rinnovata spesso (ogni settimana).

Se si ottiene un valore superiore al reale, per esempio 1,10 per mille, dividere il tasso uréico ottenuto con la prova del siero per questa cifra e si ha il valore reale dell' *Azotemia* nel siero.

A tutto il siero disponibile, messo in un bicchierino o cilindretto si aggiunge una uguale quantità, di acido tricoloracetico al 20%, si agita con una bacchetta di vetro e si filtra per carta. Si misura esattamente il filtrato che si pone in un bicchiere. Si aggiunge una goccia della soluzione di fenolftaleina e si neutralizza con la soluzione di soda fino a lieve colorazione rossa. Si versa tutto nel bicchierino dell'urometro di *Ambard* tenendo aperto il rubinetto e compressa la vescica di gomma, in modo di poter aspirare lentamente il liquido nel tubo: si lava più volte il bicchiere usato per la neutralizzazione con acqua distillata e si versa questa nell'apparecchio.

Si comprime la vescica di gomma, a rubinetto aperto, in modo da fare arrivare il liquido fino al rubinetto e nel foro dello stesso senza oltrepassarlo e si chiude il rubinetto. Se il liquido non fosse sufficiente per questo, si aggiunge dell'acqua distillata.

Nell'apparecchio non devono residuare bolle d'aria dopo ripetuti capovolgimenti di esso; assicurarsi di avere scacciate tutte le bollicine di gas impigliate tra le palline e aderenti alla vescica di gomma, agitando e scuotendo la detta vescica con ripetuti colpetti e muovendo con le dita le palline in essa contenute.

Si versano 8-10 cc. della soluzione di Ipobromito di sodio nel bicchierino dell'apparecchio. Aprendo cautamente il rubinetto, e rilasciando lentamente la mano che tiene compressa la vescica di gomma si fa scorrere la soluzione nell'apparecchio chiudendo rapidamente il rubinetto quando il livello dell'Ipobromito nel bicchierino si trova al segno 1 cc., ovvero a mezzo centimetro sopra il rubinetto per evitare l'ingresso dell'aria.

Si capovolge più volte l'apparecchio facendo scorrere le palline di vetro nel tubo finchè cessa lo svolgimento di gas (ciò avviene abitualmente dopo circa 30'); si fa raccogliere tutto il gas nel tubo schiacciando le bollicine dell'interno della vescica di gomma come spiegato sopra. Si immerge verticalmente l'apparecchio in un largo cilindro pieno di acqua, si toglie la vescica di gomma e si porta il livello del liquido nell'apparecchio al livello dell'acqua esterna. Questa manualità praticamente ha poco valore considerato lo scarso sviluppo di gas; si può quindi eliminare nel caso non vi fosse la disponibilità di un cilindro adatto.

Si legge il volume del gas sviluppatosi direttamente dal tubo graduato diviso in trentesimi di cc.

Dal numero di trentesimi di cc. si ricava dalla tabella seguente il corrispondente in centimetri cubici:

Trentesimi	cc.	Trentesimi	cc.
1	0,03	16	0,53
2	0,06	17	0,56
3	0,10	18	0,60
4	0,13	19	0,63
5	0,16	20	0,66
6	0,20	21	0,70
7	0,23	22	0,73
8	0,26	23	0,76
9	0,30	24	0,80
10	0,33	25	0,83
11	0,36	26	0,86
12	0,40	27	0,90
13	0,43	28	0,93
14	0,46	29	0,96
15	0,50	30	1,00

Esistono in commercio degli Ambard già graduati al centesimo di centimetro cubo, ciò rende inutile questo calcolo.

Si moltiplica questo valore in cc. di azoto sviluppatosi per la cifra segnata nella tabella per 1 cc. di azoto alla temperatura ambiente.

*Corrispondente ureico per mille per ogni cc. di Azoto  
Temperatura Ambiente*

	10° C.	15° C.	20° C.	25° C.	30° C.
Urea gr. ‰	2,65	2,60	2,55	2,50	2,45

Il prodotto diviso per il numero di cc. di siero (metà del filtrato) dà il tasso per mille di Urea nel sangue.

Per esempio, con 6 cc. di filtrato si sono ottenuti 16 trentesimi di Azoto alla temperatura di 25° C., allora:

$$2,50 \times \frac{0,53}{3} = 0,44 \text{ ‰}$$

Se la depressione barometrica fosse notevole (in altitudine) si moltiplica il tasso ottenuto per *Pressione barometrica in mm. di Mercurio.*

Per esempio, in una città di montagna con pressione barometrica di 600 mm. di Hg., questo valore sarebbe:

$$0,44 \times \frac{600}{760} = 0,33 \text{ ‰}$$

*N. B.* — Per facilitare il calcolo, specie quando si eseguono contemporaneamente diverse azotemie, è consigliabile scartare le frazioni di cc. di filtrato usando possibilmente sempre la stessa quantità, per esempio usando sempre 4 cc. di filtrato (ottenuto facilmente usando 4 cc. di siero) si ottiene direttamente il tasso ureico per mille del numero di trentesimi segnato sul tubo dell'apparecchio usando la tabella seguente.

*Temperatura Ambiente*

	10° C.	15° C.	20° C.	25° C.	30° C.
1	0,044	0,043	0,042	0,041	0,040
2	0,087	0,086	0,084	0,082	0,080
3	0,131	0,128	0,125	0,123	0,121
4	0,174	0,171	0,168	0,165	0,162
5	0,218	0,214	0,210	0,206	0,203
6	0,262	0,257	0,252	0,248	0,244
7	0,305	0,300	0,295	0,289	0,280
8	0,349	0,343	0,336	0,329	0,323
9	0,392	0,386	0,375	0,370	0,363
10	0,437	0,429	0,420	0,412	0,404
11	0,481	0,472	0,462	0,453	0,444
12	0,524	0,515	0,504	0,494	0,484
13	0,568	0,557	0,546	0,535	0,525
14	0,611	0,600	0,588	0,577	0,566
15	0,655	0,643	0,630	0,618	0,607

Trentesimi di c. c. di Azoto

Azotemia in gr. di urea ‰

Si intende che bisogna sempre fare la correzione barometrica come spiegato sopra.

## URICEMIA

Tasso normale: 0,035 - 0,050 per mille

### Metodo di Grigaut

Lettura col colorimetro di Duboscq

Quantità di sangue necessario: 10 cc. oppure 5 cc. di siero limpido.  
Reattivi occorrenti:

1. Soluzione di acido tricloracetico al 20 %;
2. Reattivo fosfotungstico di Folin e Denis così composto:  
Tungstato sodico gr. 100;  
Acido fosforico 85 % (60° Beaumè) cc. 80;  
Acqua distillata cc. 750.

Si fa bollire il tutto per due ore in un pallone munito di refrigerante a ricadere. Si raffredda e si porta a un litro in un matraccio tarato.

3. Soluzione satura di carbonato di sodio;
4. Soluzione di acido urico al 0,20 % (Soluzione madre).

La soluzione madre di acido urico si prepara nel modo seguente: in pochi cmc. di acqua distillata si mettono gr. 0,20 di acido urico puro agitando bene con una bacchettina di vetro in modo da ottenere una buona omogeneizzazione; si versa poi in un pallone tarato da 1000 cmc. A parte si prepara una soluzione di gr. 9 di fosfato bisodico puro e gr. 1 di fosfato monosodico puro cristallizzato in 500 cmc. di acqua distillata e, dopo aver scaldata la soluzione la si aggiunge molto lentamente alla sospensione di acido urico agitando sempre, fino ad ottenere la soluzione dell'acido urico. Prima di portare il volume a 1000 aggiungere cmc. 1,40 di acido acetico glaciale; raffreddare bene, portare al segno ed infine aggiungere 5 cmc. di cloroformio per la conservazione. La soluzione madre di acido urico va rinnovata ogni mese circa.

Questa soluzione deve servire al momento dell'uso per preparare la soluzione campione.

Preparazione del filtrato di siero: a circa 5 cc. di siero limpido si aggiunge ugual volume di acido tricloracetico al 20 %, si agita e si filtra, si raccoglie il filtrato in una provetta.

Preparazione della soluzione campione: in una provetta si mette un cc. di soluzione madre in acido urico al 0,20 % già preparata e a questa si aggiungono 3 cc. di acqua distillata e 4 cc. di acido tricloracetico al 20 %. Questa è la *soluzione campione* di acido urico.

*Tecnica.* — Si preparano 2 provette da 20 cc. e 2 matraccetti da 50 cc.

Nella prima provetta si mettono 5 cc. di filtrato di siero.

Nella seconda provetta si mettono 5 cc. della soluzione campione preparata di acido urico.

In ciascuna provetta si mettono 2 cc. di reattivo fosfotungstico e si agita.

Nei matraccetti si mettono 15 cc. della soluzione satura di carbonato sodico.

A questo punto bisogna preparare il colorimetro di Duboscq, ed avere pronte, ben lavate, le due vaschette grandi.

Si versa subito il contenuto della provetta, col filtrato del siero, in uno dei matraccetti con la soluzione di carbonato.

Appare una colorazione azzurra, si agita e si riempie una delle vaschette che si mette nel supporto adatto in corrispondenza del cilindro sinistro dell'apparecchio. Subito si fa lo stesso con la seconda provetta contenente la soluzione campione di acido urico versando il contenuto nel secondo matraccino con soluzione di carbonato, si agita e si riempie la seconda vaschetta che si pone nel supporto di destra del colorimetro. Mediante la vite micrometrica si sposta questa vaschetta di destra portando lo zero del nonio al livello del 10 della scala graduata.

Si guarda nell'oculare dell'apparecchio e si gira il tamburo graduato, posto al disopra dei cilindri, ottenendo la maggiore o minore immersione del cilindro e per conseguenza lo spessore dello strato liquido nella vaschetta contenente il siero in esame, finchè le due metà del campo visivo acquistino la stessa tinta di colore.

A questo punto si legge la scala annessa al tamburo.

La mescolanza dei reattivi e le letture debbono essere eseguite con la massima celerità, prima che i liquidi nelle vaschette si intorbidino, perchè ciò renderebbe impossibile la lettura al colorimetro.

*Calcolo.* — I numeri segnati nelle due scale dell'apparecchio, cioè quella in corrispondenza al nonio e quella del tamburo graduato indicano in millimetri la distanza tra l'estremo inferiore del cilindro di vetro del colorimetro e il fondo della vaschetta, in altri termini indicano lo spessore del liquido esaminato.

Il tasso uricemico per mille dato da:

$$\frac{(C) \text{ (dal N. di millimetri della soluzione campione)}}{(F) \text{ (dal N. di millimetri della soluzione del filtrato)}} \times \frac{0,20}{8} \times 2$$

ciò perchè la soluzione madre di acido urico al 0,200 per mille è stata diluita 8 volte, per avere la soluzione campione e il siero in esame è stato diluito due volte.

Se F è uguale a 20 giacchè C = 10 si ha

$$\frac{10}{20} \times \frac{0,20}{8} \times 2 = 0,025 \text{ ‰}$$

Più facilmente si calcola il tasso uricemico dividendo 0,50 per il numero segnato sulla scala girevole; nell'ipotesi nostra 20 millimetri.

$$\frac{0,50}{20} = 0,025 \text{ ‰}$$

Dopo usato il colorimetro bisogna pulire bene i prismi e le vaschette con acqua distillata e asciugare con una compressa di garza.

## Metodo Neubauer

Lettura col colorimetro Hellige Universale a Prismi colorati

In una provetta da centrifuga si mettono 3 cc. di siero limpido, 3 cc. di soluzione di acetato di uranile all'1,60% e 4 cc. di acqua distillata. Si agita il tutto con una bacchetta di vetro e si centrifuga per 20 minuti.

A 3 cc. del centrifugato limpido si aggiungono cc. 1,35 di soluzione satura di carbonato sodico e cc. 0,15 di reattivo Fosfo-Tungstico e di Follin e Denis (vedi metodo Grigaut); questa miscela si agita e si versa nel bicchierino del colorimetro.

Guardando attraverso l'oculare dell'apparecchio e manovrando la vite adatta si sposta il prisma colorato finchè le due metà del campo visivo acquistino la identica tinta.

Si nota la cifra segnata sulla scala graduata dell'apparecchio e da questa si ricava il tasso di acido urico per cento di sangue della tabella annessa all'apparecchio.

Questo valore viene moltiplicato per dieci e si ha il tasso di acido urico per mille.

## SIERODIAGNOSI PER LA SIFILIDE

### a) Reazione di flocculazione di Kahn

Materiale necessario:

1. Provette per la diluizione dell'antigene del diametro di cm. 1,5 ed alte circa cm. 5,5.
2. Provette per la reazione del diametro di cm. 1 e alte cm. 7,5 circa.
3. Pipette tarate. In commercio si trovano serie speciali di Pipette:
  - a) Per la distribuzione dell'antigene occorrono:
    - Pipette tipo A da cm. 1 con 20 divisioni da cmc. 0,05
    - Pipette tipo B da cm. 0,5 con 20 divisioni da cmc. 0,025
    - Pipette tipo C da cm. 0,25 con 20 divisioni da cmc. 0,0125

b) Per la distribuzione dei sieri occorrono:

Pipette tipo E da cmc. 0,9 con 6 divisioni da cmc. 0,15

s) Per la distribuzione della soluzione fisiologica occorrono:

Pipette tipo F da 10 cmc. divise ad un decimo

4. Apparecchio agitatore che faccia 275-280 oscillazioni al minuto.

5. Lampada per la lettura dei risultati. Può sostituirsi con un agglutinoscopio od una forte lente di ingrandimento.

6. Siero in esame, siero sicuramente luetico e siero sicuramente non luetico. Questi sieri debbono essere resi limpidi con la centrifugazione e per l'uso vanno prima inattivati o scomplementati, cioè vanno scaldati a bagno maria a 54-56° C. per trenta minuti.

7. Antigene per la reazione di Kahn: questo è un estratto alcoolico di cuore di bue esaurito con etere e poi colesterinizzato.

In commercio si trova già preparato in boccette sulle quali si trova segnato il titolo delle diluizioni cioè quante parti di soluzione fisiologica vanno aggiunte a una parte di antigene per avere la diluizione dell'antigene occorrente alla reazione. Comunemente questo titolo varia da 1,1 cc. a 1,3 cc. di soluzione fisiologica per ogni cc. di antigene.

#### TECNICA DELLA REAZIONE DI K A H N

Per ogni reazione occorrono 3 provette che si dispongono una dietro l'altra sul supporto dell'agitatore. Dovendo eseguire più di una reazione si porranno nel supporto una vicina all'altra altrettante serie di tre provette quanti saranno i sieri da esaminare, più altre tre serie di tubi per i controlli del siero Positivo e Negativo e per il controllo dell'antigene.

#### *Schema per un siero in esame e controllo*

Provette	Siero in esame		Siero negativo		Siero positivo		Controllo antigene	
	Antigene	Siero	Antigene	Siero	Antigene	Siero	Antigene	Soluzione fisiologica
	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.	cmc.
1 fila	0,05	0,05	0,05	0,15	0,05	0,15	0,05	0,15
2 »	0,025	0,15	0,025	0,15	0,025	0,15	0,025	0,15
3 »	0,0125	0,15	0,0125	0,15	0,0125	0,15	0,0125	0,15

1. *Diluizione dell'antigene.* — Si versa a mezzo di una pipetta bene asciutta in una provetta per la diluizione dell'antigene la quantità di antigene necessaria (cc. 1 circa per 20 reazioni) ed in un'altra provetta simile la quantità di soluzione fisiologica al 0,85 %, che si desume dal titolo, scritto sulla etichetta del flacone d'antigene.

È consigliabile usare almeno ogni volta 1 cc. d'antigene. Si versa quindi *rapidamente* la soluzione fisiologica nella provettina contenente l'antigene mischiando la soluzione e viceversa per circa 10 volte. Lasciata maturare la diluizione per 10 minuti, la si utilizza al più tardi entro i 20 minuti successivi.

2. *Ripartizione della diluizione dell'antigene.* — Si introduce entro tutte le provette della prima riga 0,05 cc. di diluizione, 0,025 cc. entro quella della seconda; 0,0125 entro quella della terza, adoperando per queste ripartizioni le pipette speciali A. B. C. di cui ogni divisione misura rispettivamente 0,05 cc., 0,025 cc., 0,0125 cc.

Si avrà cura di introdurre ogni volta la pipetta fino al fondo della provetta per depositarvi la diluizione.

3. *Ripartizione dei sieri.* — Precedentemente centrifugati e inattivati per mezzo della pipetta E si versa 0,15 cc. (una divisione) di siero entro ciascuna delle tre pipette della prima serie, poste una dietro all'altra. Lo stesso si ripete per ciascun siero in esame e per il siero Positivo e Negativo. Per il controllo dell'antigene, versare la medesima quantità di soluzione fisiologica invece del siero entro una serie di tre provette contenenti le quantità di antigene sopradette.

4. *Agitazione.* — Si pone il supporto nell'apparecchio agitatore e si fa funzionare l'apparecchio per tre minuti alla velocità di 275-280 colpi al minuto, si dovranno contare circa 825-870 oscillazioni durante il funzionamento di tre minuti contati dall'orologio disgiuntore automatico. Dopo agitato per tre minuti a 275-280 oscillazioni al minuto, aggiungere soluzione fisiologica:

cmc. 1 in ogni provetta della prima fila

cmc. 0,5 in ogni provetta della seconda fila.

5. *Lettura.* — Immediatamente si leggono i risultati alla luce del giorno di fronte ad una finestra (ad occhio nudo, per mezzo di uno specchio concavo o di un comune agglutinoscopio) ponendo ogni provetta in una posizione quasi orizzontale e facendola rotare fra le dita.

6. *Annotazione dei risultati.* — Si distinguono per ogni provetta i seguenti gradi:

++++ granulazione nettamente distinta, già visibile ad occhio nudo, sospesa nel liquido chiaro;

+++ granulazione ancora visibile ad occhio nudo ma più fine, liquido più o meno torbido;

++ fini granulazioni, sospese entro il liquido leggermente opalescente, visibile solamente a mezzo dello specchio dell'agglutinoscopio;

+ finissime e numerose, visibili a mezzo dello specchio o dello agglutinoscopio, aventi l'aspetto di polvere natante in un liquido opalescente;

+ granulazione appena visibile anche con lo specchio e con l'agglutinoscopio, aspetto torbido del liquido;

— reazione negativa, liquido chiaro e leggermente opalescente senza alcuna granulazione.

7. *Interpretazione dei risultati.* — Si fa la media dei risultati ottenuti nelle tre provette aggiungendo un + quando il resto della media è maggiore di 1. Con i sieri fortemente positivi, la flocculazione è della medesima intensità entro le tre provette, ma il precipitato è più abbondante entro la prima.

Con i sieri debolmente positivi l'intensità della flocculazione è più grande con le piccole dosi d'antigene (terza provetta) che con le dosi forti (1 provetta).

Si interpretano come positivi i risultati (media delle tre provette) caratterizzati + + + + fino a + + come reazione dubbia quella caratterizzata da + + qualunque sia il numero di + della terza provetta.

*Interpretazione dei risultati della reazione di Kahn su siero*

Provette	N. 1	N. 2	N. 3	Risultato finale media delle reazioni
	++++	++++	++++	++++
	+++	++++	++++	
	++	++++	++++	+++
	+	+++	++++	
	—	+++	++++	++
	—	++	+++	
	—	—	++++	+
	—	—	+++	
	—	—	++	<u>+</u>
	—	—	—	<u>—</u>

In seguito alle decisioni della Conferenza Internazionale di Copenaghen, sotto il patronato della Società delle Nazioni, Kahn propose di adottare la seguente norma per l'indicazione dei risultati:

Risultati complessivi espressi secondo Kahn	Risultati secondo il sistema di Copenaghen
++++ +++ ++	Reazione positiva +
+ <u>+</u>	Reazioni dubbie <u>+</u>
—	Reazione negativa —

## b) Reazione di intorbidamento di Meinicke (M. T. R.)

### *Reagenti.*

1. Estratti. - Gli estratti per la reazione di intorbidamento (M.T.R.) di Meinicke per la sifilide contengono in una soluzione alcoolica le sostanze solubili del muscolo del cuore del cavallo con aggiunta di balsamo del Tolù e acido benzoico.

Gli estratti debbono essere conservati alla temperatura ambiente (non in ghiacciaia) e protetti dalla luce. Se l'invio degli estratti ha luogo durante l'inverno ad una temperatura abbastanza bassa, conviene mettere le bottigliette con l'estratto dopo l'arrivo per un giorno nel termostato a 37° e poi alla temperatura ambiente. Le bottiglie debbono sempre essere ben tappate, si eviti di aprirle inutilmente, specialmente se l'ambiente è umido. Non si usino tappi di gomma.

2. Soluzione salina. - Si prepara una soluzione madre al 10 % di cloruro di sodio (Na Cl) purissimo con acqua distillata.

Per avere una soluzione di cloruro di sodio al 3% si aggiungono a 30 cc. di questa soluzione 70 cc. di acqua distillata. Se in detta soluzione si scioglie poi un grammo di Carbonato di sodio purissimo, si ottiene una soluzione madre di carbonato di sodio all'1 %.

La soluzione madre di cloruro di sodio, al 10 % e la soluzione madre di carbonato di soda all'1 % si conservano inalterate per molte settimane e anche per mesi.

Per la esecuzione della reazione si usa una soluzione contenente 3% di Cloruro di sodio e 0,01% di Carbonato di soda. Tale soluzione si prepara aggiungendo a 99 cc. della soluzione salina al 3% un cc. della soluzione madre all'1% di carbonato di soda. Allora la soluzione è pronta per l'uso; essa si conserva bene ed inalterata per circa una settimana se tenuta in luogo fresco.

3. Il siero da esaminare deve essere *fresco ed attivo*, cioè non riscaldato a 56° e reso limpido con la centrifugazione.

*Tecnica della reazione.* — Diluizione degli estratti. - Il quantitativo di estratto necessario per le prove (1 cc. per 10 sieri) viene introdotto con una pipetta nel fondo di una provetta, oppure nel fondo di un matraccetto. In una seconda provetta oppure in un secondo matraccetto si mette il *decuplo* della soluzione, pronta all'uso, con il 3% di cloruro di sodio e 0,01 % di Carbonato di soda. I due recipienti di vetro debbono essere riscaldati in un bagno maria a 45° per 10 minuti.

Si mescola quindi rapidamente il contenuto, versando la soluzione salina nell'estratto e viceversa, riversando subito dopo il tutto un'altra volta nella prima provetta dell'estratto. Questa operazione va fatta rapidamente, stando però bene attenti che non si perda nulla del liquido.

Tale diluizione dell'estratto, ancora calda, sembra un po' torbida ma appare trasparente se la si guarda contro una finestra chiara, ad

una distanza di 2 metri. Si lascia quindi maturare a temperatura ambiente per 10 minuti la diluizione, che allora diviene un po' più torbida, rimanendo però sempre trasparente. A tale punto la diluizione è pronta per eseguire la reazione.

Si usano provette di circa 10 cm. di lunghezza e del diametro di 10-12 mm. Si dispongono su di un porta provette a due piani che distingueremo con A-B indicando con A quello che trovasi nel piano anteriore. Si numerano le provette progressivamente dall'1 in poi in modo che quelle ad esempio portanti il numero 1 si trovino tutte una dietro l'altra sui due piani, e così per gli altri numeri.

Con una pipetta si introduce in ciascuna delle provette ad esempio 1 A, 1 B, 0,20 di un siero in esame; in quella 2 A, 2 B, 0,20 di un altro siero e così via.

Quando, tutti i sieri in esame sono stati distribuiti si mette in tutte le provette della linea A una goccia di formalina al 40%.

Tale aggiunta impedisce una reazione di intorbidamento fra il siero e la diluizione dell'estratto. Quindi tutte le provette della linea A rimangono più o meno chiare corrispondentemente al grado di trasparenza del siero stesso, e servono di controllo alla reazione. Occorre inoltre istituire prove con sieri sifilitici e normali a scopo di controllo.

Quando tutti i sieri sono stati pipettati, e la formalina aggiunta ai sieri della linea A e la diluizione degli estratti hanno il giusto grado di intorbidamento, si aggiunge in ciascuna provetta della linea A e B un cc. di estratto già diluito. Si scuotono le provette perchè avvenga bene la mescolanza fra siero ed estratto.

*Disposizione dei tubi per la reazione di Meinicke (M. T. R.)*

siero in esame 1°		siero in esame 2°	siero in esame 3°	risultati
B	siero cc. 0,20 dil. antigene 1 cc.	cc. 0,20 1 cc.	cc. 0,20 1 cc.	{ ? ?
A	siero 0,20 dil. antigene 1 — formalina 1 goccia	0,20 1 — 1 goccia	0,20 1 — 1 goccia	{ negativo

*Letture della reazione.* — Finita la mescolanza dei sieri con le diluizioni degli estratti, si tiene il porta provette a temperatura ambiente (optimum 20° C.).

Dopo un'ora si leggono i risultati ad occhio nudo, esaminando il grado di intorbidamento nelle provette. Per tale operazione conviene tenersi a due o tre metri di distanza da una finestra con molta luce e guardando attraverso il liquido delle provette l'incrociatura della finestra.

1. *Reazione negativa.* — Se la croce della finestra o della cassetta appare in tutte e due le provette di un siero, nera e con limiti netti e se il liquido stesso è ben trasparente, la reazione è da considerarsi negativa. Se il liquido è assolutamente trasparente e la croce appare più o meno velata con lineamenti più precisi ma il grado di intorbidamento è lo stesso nelle provette di reazione come nella provetta di controllo A, la reazione è ugualmente negativa. Si tratta in questo caso di un siero che è già torbido da sè.

2. *Reazioni fortemente positive.* — L'intorbidamento del liquido nella provetta di reazione è così denso che nulla vi si può vedere attraverso. La croce non è visibile. Al contrario il liquido nella provetta di controllo A è chiaro e trasparente o al massimo, se si tratta di un siero torbido da sè, poco velato. Il contrasto fra l'intorbidamento denso nella provetta di reazione e la trasparenza della provetta di controllo dà la sicurezza che si tratta di un siero fortemente positivo. Lasciando a riposo al fondo della provetta col siero fortemente positivo si forma un deposito polverulento mentre il liquido diventa trasparente, perdendo l'opalescenza iniziale.

3. *Reazioni debolmente positive e dubbie.* — In questo caso l'intorbidamento delle provette di reazione non è mancato. Si vede, attraverso il liquido, tutto come dietro un velo. La croce ha dei lineamenti non precisi e il colore della croce non è nero come nelle reazioni negative, ma grigio. La differenza d'aspetto fra la provetta di reazione e quella di controllo A non è così grande come in una reazione fortemente positiva. Dunque se la differenza nell'aspetto fra controllo e reazione è soltanto lieve, la reazione è da considerarsi dubbia. Se la differenza è più o meno pronunciata, si giudica la reazione debolmente positiva specie se si tratta di un sangue di un sifilitico conosciuto.

Le reazioni debolmente positive e dubbie si devono esaminare una seconda volta, dopo che le provette sono state lasciate un'altra ora a temperatura ambiente. Dopo questo tempo l'intorbidamento nella provetta di reazione è divenuto così marcato che si può giudicare bene la reazione come positiva. Se in questo frattempo l'intorbidamento non si accresce e la differenza del grado di intorbidamento fra la provetta B di reazione e quella di controllo A è soltanto lieve, bisogna giudicare la reazione come dubbia. Si deve in questo caso ripetere la prova con un nuovo campione del siero dello stesso malato dopo alcuni giorni.

Se si devono esaminare dei sieri emolizzati, o fortemente torbidi e la reazione di un tale siero non appare chiaramente negativa o positiva, ma dubbia, si consiglia di fare con questo siero oltre la macroreazione (M.T.R.) anche qualche altra reazione da servire come controllo.

### c) Reazione di Ide

La reazione di Ide può essere considerata una microfloculazione in senso lato, in quanto le sostanze coloranti contenute nell'antigene

rendono la flocculazione così evidente che, nella massima parte dei casi, la lettura può essere fatta ad occhio nudo e solo eccezionalmente è necessario ricorrere all'ausilio di un mezzo ottico di rinforzo (lente di ingrandimento o microscopio a circa 50 ingrandimenti).

Infatti, l'antigene Ide presenta ad un esame microscopico a piccolo ingrandimento numerose particelle azzurrastre di varia grandezza che scompaiono quando l'antigene viene mescolato con un sangue o con un siero negativo, mentre dopo la mescolanza con un sangue od un siero positivo le particelle azzurrastre non soltanto non scompaiono, ma si ammassano formando dei grossi blocchi blu porpora ben visibili ad occhio nudo.

L'antigene colorato di Ide è un estratto alcoolico di cuore di bue colesterinato, contenente un rinforzatore (gomma benzoino) e due sostanze coloranti (cristal violetto ed azzurro II).

#### *Vetreria* (2): Materiale necessario:

I) Porta oggetti cavo; per l'esecuzione della reazione Ide consiglia l'uso di uno speciale portaoggetti con 3 cavità numerate del diametro di circa ) cm. e profondità di circa 2 mm., che permette di effettuare contemporaneamente 3 esami per ciascun portaoggetti, risparmiando tempo e fatica;

II) Provette per la diluizione dell'antigene.

III) Pipette tarate al centesimo. In commercio si trovano serie speciali di pipette per la Ide comprendenti: a) pipette calibrate (in modo che una goccia corrisponde a cc. 0,03) per la distribuzione del sangue o del siero; b) pipette calibrate (una goccia corrisponde a cc. 0,03) per la distribuzione dell'antigene diluito; c) pipette calibrate (in modo che una goccia corrisponda a cc. 0,05) per la distribuzione della soluzione NoCl al 3,5% occorrente per la diluizione del sangue in toto.

*Diluizione dell'antigene.* — La diluizione dell'antigene va fatta al momento dell'uso perchè trascorsi circa 30 minuti dalla diluizione, le finissime particelle azzurre-violacee si raggruppano in grossi ammassi e precipitano sul fondo della provetta rendendo l'antigene inutilizzabile.

L'antigene viene diluito aggiungendo ad una parte di antigene tre parti di soluzione cloro-sodica al 2,5% ed agitando per 20-30 volte; è bene non usare per la diluizione una quantità di antigene inferiore a cc. 0,2.

Allo scopo di rendere più accessibile al medico pratico l'esecuzione della reazione di Ide anche fuori dei laboratori di analisi l'anti-

---

(2) Presso la Ditta fornitrice dell'antigene si trova anche la scatola corredo appositamente preparata e contenente tutta la vetreria necessaria per effettuare simultaneamente 3 reazioni (portaoggetti speciali con 3 cavità numerate, pipette calibrate, ecc.).

gene e la soluzione clorosodica nelle proporzioni adatte per la diluizione vengono dalla Ditta produttrice (1) infialettati separatamente. Si elimina così la necessità dell'uso delle 2 pipette per la misurazione dell'antigene e del diluente bastando semplicemente versare in una provetta il contenuto delle due fialette (che contengono già misurati l'una l'antigene e l'altra il diluente) ed agitare per 20-30 volte onde ottenere una perfetta mescolanza dei due liquidi.

*Tecnica per l'esecuzione della reazione.* — La Reazione di Ide può venire praticata:

- 1) sul sangue totale (fresco od essiccato);
- 2) sul siero attivo od inattivato col riscaldamento per mezz'ora in bagnomaria a 56°;
- 3) sul liquido cefalorachidiano o sul liquido di vescicolazione.

1) *Esecuzione della reazione sul sangue in toto.*

a) *Prelevamento e diluizione del sangue totale.* — Del sangue prelevato sia dalla vena sia con puntura del lobulo dell'orecchio o del polpastrello del dito, per mezzo dell'apposita pipetta si versa una goccia che non sia inferiore a cc. 0,03 in una delle 3 concavità dello speciale portaoggetti cavo; indi, servendosi dell'altra pipetta appositamente calibrata, si aggiunge una goccia (cc. 0,05) di soluzione clorosodica al 3,5% alla goccia di sangue, prima che questa coaguli, e con l'aiuto di una bacchettina di vetro si mescolano accuratamente i due liquidi in modo da ottenere una perfetta mescolanza e ponendo particolare attenzione nel distribuire uniformemente la miscela su tutta la superficie della concavità.

Poi, servendosi dell'apposita pipetta per la distribuzione dell'antigene, si aggiunge alla miscela sangue-soluzione NaCl una goccia (= cc. 0,03) dell'antigene diluito.

Infine si mescola l'antigene col sangue agitando energicamente il portaoggetti per circa 4-5 minuti. Per ottenere una perfetta mescolanza del sangue diluito con l'antigene è necessario che il liquido contenuto nelle concavità del portaoggetti si muova con movimento rotatorio; perciò bisogna tenere il portaoggetti cavo orizzontalmente sul piano di un tavolo e muoverlo energicamente in modo da imprimere al liquido il necessario movimento rotatorio.

Volendo agitare contemporaneamente più portaoggetti cavi è necessario usare un supporto di legno appositamente preparato ed imprimere a questo il movimento rotatorio.

Per quello che riguarda la durata dell'agitazione mentre le forti positività determinano la comparsa entro 1-2 minuti primi di una flocculazione evidente anche ad occhio nudo, le positività deboli pur

---

(1) L'antigene Ide preparato sotto il controllo degli A.A., si trova in Italia presso il Laboratorio Specialità Mediche, Piazzale Fiume 7, Milano.

essendo sempre chiaramente visibili ad occhio nudo si manifestano talora più tardivamente: volendo praticare la lettura ad occhio nudo è bene perciò, come del resto consiglia lo stesso Ide, prolungare lo scuotimento per circa 10 minuti primi.

E' necessario inoltre porre la massima accuratezza nell'eseguire la diluizione e la mescolanza del sangue totale con la soluzione salina al 3,5%, spandendo bene la miscela su tutta la superficie della concavità.

Qualora non fosse possibile praticare la reazione su sangue totale subito dopo il prelevamento, basta riempire di sangue qualche tubicino capillare di quelli usati per la reazione di Widal. Può anche venire usato il sangue raccolto in provetta (dopo aver prelevato il siero limpido necessario per la esecuzione delle altre reazioni sierologiche) in modo da ottenere una mescolanza siero-globuli rossi di densità presso a poco uguale a quella del sangue.

L'invecchiamento del sangue o del siero, non pregiudica il buon andamento della reazione di Ide purchè conservato in ghiacciaia ed entro i consueti limiti di tempo, oltre i quali i sieri finiscono col presentare le note modificazioni colloidali con spontanea precipitazione di flocculi.

Ritengo sia assolutamente necessario l'attenersi strettamente alle istruzioni tecniche, perchè la reazione di Ide analogamente alle altre reazioni di flocculazione, malgrado la sua estrema semplicità è sempre di esecuzione alquanto delicata bastando un piccolo difetto di tecnica per alterarne gravemente i risultati. E debbo insistere innanzi tutto, ed in modo particolare, sulla necessità assoluta di lavorare al riparo dal pulviscolo atmosferico. Oltre alla più scrupolosa pulizia della vetreria, che va conservata al riparo dalla polvere, sia durante il prelevamento del sangue che durante l'agitazione, bisogna tenere sempre ben coperti i vetrini concavi contenenti la miscela sangue-antigene onde evitare che granellini di polvere e filuzzi cadendo nelle vaschette e colorandosi in bleu possano simulare la flocculazione nei sangui negativi.

*Lettura.* — Va fatta immediatamente, non appena terminata l'agitazione.

In un primo tempo Ide leggeva i risultati servendosi di un microscopio a piccolo ingrandimento (circa 50 diametri) e consigliava di eseguire la lettura osservando in luce molto chiara specialmente il bordo periferico dove il materiale trovasi in strato più sottile.

Più recentemente gli autori hanno modificato la tecnica di lettura consigliando di prolungare per circa 10 minuti lo scuotimento del portaoggetti stesso posto su un foglio di carta bianchissima. Su tale fondo bianco si possono vedere benissimo ad occhio nudo i piccoli flocculi azzurrastrati ed abitualmente le reazioni positive presentano una

flocculazione tanto evidente da essere facilmente percettibile ad un occhio esercitato anche senza alcun mezzo di rinforzo; in qualche caso dubbio ci si potrà servire di una lente a 5-10 ingrandimenti.

*Interpretazione dei risultati.* — La reazione è fortemente positiva (+++) quando già durante lo scuotimento si scorgono ad occhio nudo grossi flocculi azzurro-violacei che spiccano nettamente sul fondo rosso opaco del sangue totale.

La reazione è positiva (++) quando i flocculi pur essendo sempre visibili ad occhio nudo compaiono più tardivamente e sono molto piccoli.

La reazione è debolmente positiva (+) quando i flocculi sono tanto piccoli da essere visibili solo con l'aiuto della lente di ingrandimento o del microscopio.

Quindi il grado di maggiore o minore positività dipende dal numero e dalla grandezza dei flocculi.

Ide consiglia di fare due letture una subito ed un'altra dopo 15' specie nei casi di reazioni dubbie; nei casi di sifilide curata ed a reazione negativa suggerisce un preventivo riscaldamento del sangue (defibrinato meccanicamente) per 20' in bagnomaria a 56°.

Infine la reazione è negativa (—) quando manca ogni traccia di flocculazione ed al microscopio si osservano soltanto delle sottili verghette bluastre fra i globuli rossi.

*Esecuzione della reazione sul sangue essicato.* — Una goccia di sangue (circa cc. 0,04) viene messa su di un comune vetrino portaoggetti e rimestata per 3-4 minuti con lo spigolo di un altro vetrino onde estrarre la fibrina, poi si lascia essiccare.

Al momento dell'uso il residuo essicato viene stemperato in una goccia di soluzione NaCl al 3,5% e lo si versa nella concavità dello speciale portaoggetti cavo, poi si aggiunge una goccia di antigene diluito, si agita per 4-5 minuti e si procede alla lettura.

Il sangue essicato può essere conservato anche per parecchie ore.

*Esecuzione della reazione sul siero attivo od inattivo, su liquor, su liquido di vescicolazione, essudati.* — Una goccia (circa cc. 0,03) del materiale in esame viene posta nella concavità del vetrino, vi si aggiunge una goccia di antigene diluito, si agita per 5 minuti e si procede alla lettura.

Nei casi positivi sul fondo incolore o giallastro del liquido in esame si scorgono ad occhio nudo dei flocculi azzurri-violacei, più o meno grandi e più o meno numerosi a seconda dell'intensità della positività.

Nei casi negativi il liquido resta uniformemente colorato in azzurro-violaceo e senza traccia di flocculazione.

Su siero, la lettura ad occhio nudo dei risultati è sempre facile anche nei casi di debole positività e non richiede alcun particolare

accorgimento di tecnica. Nelle reazioni fortemente positive, già nel primo o secondo minuto di agitazione si scorgono benissimo ad occhio nudo dei piccoli conglomerati azzurrognoli che, per il movimento rotatorio impresso al liquido contenuto nella vaschetta, tendono in un primo tempo a disporsi ad anello intorno ad una zona centrale chiara mentre poi, continuando l'agitazione, finiscono con confluire in un unico ammasso situato al centro della vaschetta.

Invece nelle reazioni di media o debole positività i piccoli conglomerati tendono sempre a disporsi alla periferia, laddove il liquido si presenta in strato meno spesso, e formano un sottile alone azzurro circostante uno spazio chiaro centrale; inoltre le particelle confluiscono più difficilmente restando sparse anche dopo ulteriore agitazione.

#### *Avvertenze.*

a) Volendo eseguire simultaneamente tre reazioni usare una pipetta ed un bastoncino per ogni paziente annotando il numero della cavità del cristallo che ad ognuno si riferisce. Qualora si vogliano eseguire più reazioni con diversi cristalli, per evitare confusioni, si scriva a lapis un riferimento sull'apposito dischetto smerigliato su ogni cristallo.

b) In rari casi una reazione negativa può sembrare positiva per presenza di corpi estranei che sono caduti nel liquido in esame colorandosi in azzurro; però le particelle effettivamente positive sono ripartite in « tutto » il campo del microscopio, mentre i corpi estranei si osservano solo in qualche parte del campo stesso.

Bisogna porre particolare scrupolosità nella misurazione della goccia di sangue (cc. 0,03) perchè, se la goccia è troppo scarsa, i flocculi dell'antigene diluito talora non si disciolgono bene mentendo una falsa positività nei soggetti non sifilitici, mentre, se la goccia è troppo spessa, tale eccessivo spessore ostacola notevolmente la lettura mascherando i flocculati, specie se di piccole dimensioni, e simulando quindi una negatività nei soggetti luetici con altre sierodiagnosi positive.

In caso di reazione debolmente positiva o di goccia per inavvertenza riuscita troppo spessa, si riesce ad ovviare all'inconveniente sopra accennato imprimendo al vetrino durante la lettura, piccoli movimenti di inclinazione in modo da spandere la goccia su tutta la concavità ed assottigliarne così lo spessore: usando tale accorgimento si scorgono chiaramente i flocculi anche se piccoli, nel sottile strato marginale.

Naturalmente la reazione di Ide, come del resto le altre reazioni di flocculazioni più note ed usate per sensibilità e specificità, non è oggi in grado di sostituire senz'altro la R. W. e venire usata da sola come metodo di elezione capace di assumersi totalmente la grave responsabilità di una diagnosi sierologica di sifilide. E' anzi utile eseguire la I. R. accanto alle altre sieroreazioni già convalidate da una lunghis-

sima ed universale esperienza, onde meglio controllare ed avvalorare i reperti positivi.

Per quello che riguarda la esattezza dei risultati la reazione di Ide presenta un inconveniente comune a tutte le reazioni di flocculazione e che bisogna ben conoscere e tener presente onde evitare che, come è già avvenuto per le altre flocculazioni accessibili per la loro estrema semplicità anche ai meno esperti nella tecnica di laboratorio, la reazione venga non correttamente eseguita ed erroneamente interpretata con conseguenti gravi errori nei risultati. La I. R. come tutte le flocculazioni è una tipica sieroreazione rapida e presenta un optimum di proporzioni fra antigene e siero in esame che costituisce l'estremo limite della sensibilità specifica: perciò, anche in considerazione della minima quantità di siero usata, la reazione va eseguita attenendosi scrupolosamente alle istruzioni tecniche onde evitare che, a causa di un difetto di tecnica anche lieve nel quale si sia incorsi durante l'allestimento della reazione stessa o di circostanze ambientali sfavorevoli (ambienti polverosi, ecc.), si possa cadere nella specificità, compromettendo gravemente la esattezza dei risultati.

Tenendo conto di queste condizioni essenziali per ottenere risultati corretti, la I. R. può essere considerata, tra i vari metodi di flocculazione sinora usati, come dotata di notevolissima sensibilità e buona specificità e può quindi venire utilmente impiegata nella pratica a fianco delle altre flocculazioni; inoltre per la sua estrema semplicità di tecnica, rapidità di esecuzione e di lettura merita la preferenza su tutte le altre flocculazioni nei casi di urgenza, quando sia necessario poter disporre di una diagnosi sierologica rapida anche a solo scopo di orientamento diagnostico.

## II. - RICERCHE SULLE URINE

### CARATTERI GENERALI

#### A) *Colore.*

Esso dipende principalmente dal grado di concentrazione dell'urina.

Il colore normale varia dal giallo citrino-pallido al giallo paglierino più o meno intenso.

Si può osservare un colore particolare per ingestione di medicinali vari o per cause patologiche: Ittero (giallo o bruno verdognolo), ematuria (rossiccio o bruno scuro).

#### B) *Odore.*

Normalmente l'urina ha un odore proprio o sui generis, ma può assumere l'odore ammoniacale nella fermentazione dell'urina o altri odori in rapporto al tipo di alimentazione (asparagi, aglio), o per ingestione di medicinali (mentolo, trementina) o l'odore di frutta per presenza di acetone in notevole quantità.

#### C) *Aspetto.*

Al momento della emissione l'urina è normalmente limpida. Col raffreddamento l'urina a volte si intorbida per precipitazione di urati, di acido urico, o di fosfati o per fermentazione ammoniacale.

#### D) *Reazione.*

Normalmente l'urina ha reazione leggermente acida. Ciò si dimostra immergendo nell'urina una cartina azzurra di Tornasole che assume un colore rosso più o meno intenso. L'acidità è dovuta ai Fosfati acidi. La reazione può essere anche anfotera, cioè dare reazione acida con le cartine azzurre di Tornasole e reazione alcalina con la cartina rossa di Tornasole, la quale assume il colore azzurro.

La reazione alcalina si può avere per la fermentazione ammoniacale dell'urina o per forte ingestione di sostanze alcaline e per alimentazione vegetariana.

#### E) *Sedimento.*

Normalmente è assente nell'urina appena emessa. Col riposo si depositano dei fiocchetti di muco e gli sfaldamenti delle vie urinarie.

È abbondante nelle urine purulente o per deposito di fosfati in seguito a fermentazione o per deposito di urati, specie d'inverno.

#### F) *Peso specifico.*

La densità normale a 15° C. si aggira attorno ai 1020. Si misura con l'urometro (o urodensimetro), calato nell'urina contenuta in un cilindro. Si legge sull'asta graduata dell'urometro il numero all'altezza del livello della superficie dell'urina.

Dal piccolo termometro annesso all'urometro si osserva la temperatura dell'urina: ciò serve per fare la correzione nel modo seguente:

Per ogni 3° C. di temperatura al disopra di 15° C. si aggiunge 1 alla quarta cifra della densità segnata dall'urometro e per ogni 3° C. di temperatura inferiore a 15° C. si sottrae 1 dalla quarta cifra della densità F. es. La densità a 24° C. è 1021. La differenza tra 24° e 15° è 9° C.

$9/3 = 3$  Si aggiunge 3 alla quarta cifra e la densità corretta a 15° C. sarà di 1024.

## COMPONENTI NORMALI

### a) Urea

Dosaggio con l'ureometro di Regnard.

L'ureometro di Regnard consta di un tubo di vetro opportunamente ripiegato ed è fissato, nel suo tratto incurvato a sella, ad un sostegno di legno. Ciascuno dei due bracci del tubo che si indicano con A e B presenta in basso un rigonfiamento a bolla. I due bracci hanno gli orifizi che si chiudono l'uno A con un tappo di gomma pieno, l'altro B con un tappo di gomma forato per lasciar passare un tubicino di vetro al quale si innesta un tubetto di gomma che è a sua volta innestato ad una campanella graduata al decimo di centimetro cubo, e immersa in un cilindro pieno di acqua. Il livello dell'acqua, nella quale è immersa la campanella, quando le due branche dell'apparecchio sono perfettamente chiuse, deve corrispondere allo 0 della campanella graduata.

Ed ecco ora come si procede per la determinazione dell'urea con questo apparecchio. Tolti i tappi che chiudono le aperture delle due branche del tubo, si introducono in A 2 cc. di urina mediante pipetta

graduata e in B un eccesso di soluzione di ipobromito di sodio (circa 3 cc.).

La soluzione di ipobromito di sodio viene preparata colla seguente formula:

Soda caustica al 20 % . . . . .	cc. 85
H 20 distillata . . . . .	cc. 15
bromo . . . . .	cc. 5

Per la preparazione della soluzione di Ipobromito, bisogna tener ben presenti questi accorgimenti di tecnica: Si operi sotto la cappa di chimica o all'aperto; il Bromo deve essere versato lentamente ed agitando continuamente, impedendo nello stesso tempo che il liquido si riscaldi, col tenere il recipiente in cui si fa la soluzione immerso in acqua fredda. La soluzione di Ipobromito va conservata al fresco e allo scuro in bottiglia di vetro giallo chiusa con tappo smerigliato. Questa soluzione è facilmente decomponibile: allorquando perde il suo colorito giallo non è più adoperabile perchè l'Ipobromito di sodio si è trasformato in Bromato di sodio che non ha più alcuna azione sull'urea.

Si chiudono quindi con i relativi tappi le due aperture dell'urometro e dopo essersi nuovamente assicurati che il livello dell'acqua nell'interno della campanella è allo 0, si inclina l'apparecchio più volte in modo che avvenga la mescolanza fra urina e la soluzione di Ipobromito di sodio. Si provoca allora una reazione energica con sviluppo di azoto: ed il livello dell'acqua nell'interno della campanella si abbassa.

Quando la reazione è completa, ossia quando non si sviluppano più bollicine di gas e quelle prodottesi durante lo svolgimento della reazione sono scomparse, l'operazione è terminata.

Sollevando cautamente la campanella graduata, perchè il livello del liquido sia lo stesso all'interno della campanella e all'esterno, si legge il nuovo livello: si conosce così l'aumento di volume di gas contenuto nell'apparecchio e conseguentemente il volume di Azoto sviluppatosi.

#### *Calcolo:*

dalla seguente tabella si ricava la quantità di urea per mille di urina conoscendo il volume di azoto sviluppato e la temperatura dell'ambiente. Nei casi di forti depressioni barometriche il valore ottenuto va moltiplicato dal rapporto

Pressione barometrica in mm. Hg

760

*Dosaggio gassometrico dell'urea col metodo Regnard*  
 Valori in gr. per mille di urea (usando 2 cc. di urina)

cc. di Azoto viluppato	TEMPERATURA AMBIENTE				
	10° C.	15° C.	20° C.	25° C.	30° C.
1	1,301	1,281	1,261	1,241	1,221
2	2,602	2,562	2,522	2,482	2,442
3	3,903	3,843	3,783	3,723	3,663
4	5,204	5,124	5,044	4,964	4,884
5	6,505	6,405	6,305	6,205	6,105
6	7,806	7,686	7,566	7,446	7,326
7	9,107	8,967	8,827	8,687	8,547
8	10,408	10,248	10,088	9,928	9,768
9	11,709	11,529	11,349	11,169	10,989
10	13,010	12,810	12,610	12,410	12,210
11	14,301	14,091	13,871	13,651	13,431
12	15,612	15,372	15,132	14,892	14,652
13	16,913	16,953	16,393	16,133	15,873
14	18,214	17,934	17,654	17,374	16,094
15	19,515	19,215	19,915	18,615	18,315
16	20,816	20,496	20,176	19,856	19,536
17	22,117	21,777	21,437	21,097	20,757
18	23,418	23,058	22,698	22,338	21,978
19	24,719	24,339	23,959	23,579	23,199
20	26,020	25,620	25,220	24,820	24,420
21	27,321	26,901	26,481	26,061	25,641
22	28,622	28,182	27,742	27,302	26,862
23	29,923	29,463	29,003	28,543	28,083
24	31,224	30,741	30,264	29,784	29,304
25	32,525	32,025	31,525	31,025	30,525
26	33,826	33,306	32,786	32,266	31,746
27	35,127	34,587	34,047	33,507	32,967
28	36,428	35,868	35,308	34,748	34,188
29	37,729	37,149	36,569	35,989	35,401
30	39,030	38,430	37,830	37,230	36,622

## b) Acido urico

Dosaggio con l'uricometro di Ruhemann.

Materiali occorrenti:

### 1. *Uricometro di Ruhemann.*

Questo apparecchio consta di un tubo di vetro lungo circa 30 cm. con l'apertura superiore chiusa da un tappo a smeriglio. Verso il fondo del tubo si trova un segno S. un segno intermedio, e più in alto un segno I. e più su un lungo tratto graduato con cifre che corrispondono al numero di grammi per mille di acido urico nell'urina.

### 2. *Reattivo di Ruhemann.*

Si pesano esattamente grammi 0,50 di iodio metallico in un vetro d'orologio e si portano in un palloncino tarato da cc. 100, mediante un imbutino di vetro e con l'aiuto di 10 cc. (circa) d'acqua distillata, usando una spruzzetta.

Nel palloncino si aggiungono gr. 1,25 di ioduro di potassio, gr. 7,5 di alcool assoluto e gr. 5 di glicerina e altri 20 cc. di acqua distillata. Si agita lentamente fino a soluzione completa dello iodio e si porta al volume a 100 cc. con altra acqua distillata. Il reattivo è così pronto all'uso e va conservato in bottiglia scura e tappo smerigliato.

### 3. *Urina.*

Questa viene usata senza filtrazione. Se la reazione è alcalina, bisogna acidificarla con alcune gocce d'acido acetico concentrato puro fino a reazione acida al tornasole. Se l'urina contiene un sedimento di urati agitare bene prima di usarla. La presenza di tracce di albumina e zucchero nell'urina non influiscono sul risultato; in presenza di grandi quantità di albumina, di sangue o di pus, bisogna far coagulare queste sostanze col calore ed usare l'urina filtrata.

*Tecnica:* Nell'uricometro si fa cadere lentamente del solfuro di carbonio in modo che l'arco inferiore del menisco convesso formato dalla superficie del liquido, coincida con la linea del segno S.

Poi si aggiunge lentamente il reattivo di Ruhemann fino a che il menisco inferiore del reattivo iodico corrisponda al segno I, indi si aggiunge lentamente l'urina chiudendo il tubo col tappo di vetro e agitando dopo ogni aggiunta.

Bisogna avere l'accortezza di aprire di tanto in tanto il tappo di vetro per fare uscire i vapori di solfuro di carbonio, tenendo l'apparecchio in posizione verticale.

Il solfuro di carbonio si raccoglie in fondo alla provetta assumendo in un primo tempo un colore rosso porpora; colle successive aggiunte di urina il solfuro di carbonio si andrà man mano scolorando fino ad

acquistare un colorito rosa pallido: a questo punto la reazione è finita poichè scuotendo senza aggiunta di altra urina esso assume un aspetto bianco porcellana. Si lascia riposare per cinque minuti e poi si fa la lettura del tasso per mille di acido urico direttamente dal segno della scala graduata che corrisponde al livello superiore del liquido. Per fare la determinazione occorrono in genere da 6 a 15 minuti; con urine contenenti acido urico in quantità superiore all'1‰ si impiega un tempo anche minore. Se invece l'urina contiene acido urico in quantità minore di quello che è segnato all'estremo della scala graduata dell'uricometro, si versa la soluzione iodurata fino al segno intermedio tra S ed I; si aggiunge H<sub>2</sub>O distillata fino al segno I ed a reazione ultimata si ottiene il tasso per mille in acido urico dividendo a metà il valore segnato dal livello superiore del liquido sulla scala graduata.

### c) Cloruri

*Dosaggio col metodo di Mohr.*

Reattivi occorrenti:

1. Soluzione di nitrato di argento.

Si sciolgono gr. 29,23 di nitrato di argento crist. in 500 cc. di acqua distillata e poi aggiungere altra acqua distillata fino a 1000 cc. usando un matraccio tarato.

2. Soluzione di cromato di potassio al 5 %.

*Procedimento:*

In un bicchiere si mettono 20 cc. di acqua distillata ed esattamente 2 cc. di urina .

Si aggiungono 5 gocce di soluzione di cromato di potassio al 5 % e da una buretta si fa gocciolare lentamente la soluzione di nitrato di argento agitando continuamente con una bacchetta di vetro il liquido del bicchiere, finchè questo acquisti un colore rosso permanente (dovuto al cromato di argento).

*Calcolo:*

Sapendo che 1 cc. della soluzione di nitrato di argento è uguale a gr. 0,010 Na.cl. si ha che il

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ di cc. di cc. di Nitrato di Argento} = \text{usati} \times 0,010 \times 1000}{\text{N}^\circ \text{ di cc. di urina usati}} = \text{quantità per mille di cloruro di sodio nell'urina.}$$

Esempio: sono stati usati 2 cc. di soluzione di nitrato d'argento per 2 cc. di urina, allora:

$$\frac{2 \times 0,010 \times 1000}{2} = 10 \text{ gr. di Na. cl. } \text{‰}$$

## COMPONENTI ANORMALI

### a) Albumina

I più comuni metodi di ricerca dell'albumina nelle urine si possono dividere in due gruppi: 1) metodi di ricerca a caldo; 2) metodi di ricerca a freddo.

1. *Metodi di ricerca a caldo. — Metodo del riscaldamento con aggiunta di acido acetico.*

Il più semplice, il più usato ed anche abbastanza sicuro perchè soggetto a pochissimi errori, è senza dubbio la classica prova del riscaldamento con successiva aggiunta di acido acetico. Essendo questo metodo basato sulla eventuale comparsa di un intorbidamento nell'urina sottoposta all'azione del calore è assolutamente necessario che l'urina in esame sia perfettamente limpida, acida e non mescolata a sangue, muco, pus, ecc.

E' ovvio che se l'urina è limpida si può senz'altro procedere alla ricerca dell'albumina ma se è torbida occorre chiarificarla; per ottenere questo scopo spesso basta la filtrazione ma talora l'urina, specie se fermentata, resta torbida anche dopo la filtrazione e allora bisogna ricorrere all'aggiunta di talco, magnesia, carbonato di bario, ecc., oppure di solfato di sodio neutro cristallizzato fino a saturazione; con tali accorgimenti dopo la filtrazione si ottiene una urina perfettamente limpida e trasparente. Se l'urina è torbida per la presenza di urati basta il riscaldamento per chiarificarla. L'urina viene riscaldata perchè sotto l'azione del calore l'albumina solubile nell'acqua diviene insolubile e quindi precipita dando un intorbidamento. Ma non ogni intorbidamento deve essere considerato come indice di un'albuminaria perchè sappiamo che un intorbidamento dell'urina sotto l'azione del calore può essere determinato anche dai carbonati alcalini, dai fosfati, dalla mucina, dalla pseudo-albumina, dalle albumose, ecc. Per risolvere ogni dubbio in proposito dopo aver portato l'urina all'ebullizione aggiungiamo 2 gocce di acido acetico e vedremo scomparire l'intorbidamento con formazione di bollicine di gas se esso era dovuto ai carbonati, scomparire l'intorbidamento senza formazione di bollicine di gas se l'intorbidamento era dovuto ai fosfati, e invece persistere se è dovuto all'albumina, alla mucina, o alla pseudoalbumina o alle albumose.

L'acidificazione dell'urina per mezzo dell'acido acetico serve anche a far precipitare quella parte di albumina che sotto forma di albuminato solubile aveva resistito all'azione del calore.

Gli accorgimenti di tecnica soprariportati ci permettono di riconoscere ed eliminare le cause di errore in rapporto alla presenza nell'urina

dei carbonati alcalini, dei fosfati e degli urati; ma in presenza di un intorbidamento persistente anche dopo l'aggiunta di acido acetico non siamo autorizzati a concludere senz'altro per la presenza nell'urina in esame di albumina vera patologica.

E' a tutti noto che in talune condizioni morbose e particolarmente nelle malattie del rene si può riscontrare nelle urine la presenza di albumina che viene chiamata albumina vera o patologica per distinguerla da quelle sostanze albuminoidi (nucleoalbumine, ecc.) che sono presenti anche nell'urina normale sebbene generalmente in quantità tanto piccola da essere difficilmente svelabili coi comuni reattivi.

Ora mentre la vera albumina patologica è costituita da una miscela di siero albumina e sieroglobulina, le sostanze albuminoidi, presenti anche nelle urine normali, sono specialmente le glicoproteine (mucina) e le fosfoproteine (nucleoalbumina) la cui miscela forma la pseudo-albumina.

Dato che albumina vera e pseudo-albumina posseggono delle comuni reazioni chimiche di precipitazione (entrambi precipitano sotto l'azione del calore e il precipitato diventa più manifesto aggiungendo acido acetico mentre l'urina è calda) si può essere indotti in errore a dichiarare presente in una urina quell'albumina patologica che invece manca.

La pseudo-albumina si riscontra nell'urina normale alla dose di gr. 0,04 per litro circa ed è composta da una miscela di mucina e di nucleo-albumina (derivanti dalle secrezioni mucose e dalla desquamazione epiteliale delle vie urinarie), è molto frequente nella donna ed è sempre presente nelle urine anche dopo filtrazione. La pseudo-albumina pur presentando come l'albumina vera, la proprietà di precipitare sotto l'azione del calore e aggiunta di acido acetico, ha delle proprietà fisiche e chimiche che permettono di differenziarla dalla albumina vera.

Il miglior metodo per distinguere la pseudo-albumina dalla albumina vera è il seguente:

versare in una provetta 3 cc. di una soluzione sciropposa di acido citrico (100 gr. di acido citrico e 75 gr. di acqua), aggiungere con cautela 4 cc. di urina limpida evitando la mescolanza dei liquidi; se l'urina contiene pseudo-albumina si forma una zona nebulosa a contatto dell'acido nettissima dopo 2-3 minuti; invece le urine albuminuriche rimangono perfettamente limpide.

Se si vuole invece ricercare l'albumina senza essere disturbati dalla eventuale presenza di pseudo-albumine basta aggiungere all'urina un po' di solfato di soda o una soluzione satura di cloruro di sodio (nella proporzione di 1/5 di sol. (NaCl+4/5 di urina) prima del riscaldamento; questi sali mantengono in soluzione la pseudo-albumina e non la fanno precipitare insieme all'albumina.

Per quello che riguarda la eventuale presenza di albumose basterà tener presente che se il precipitato formatosi dopo il raffreddamento si ridiscoglie dopo ulteriore riscaldamento, esso è dato da albumose.

2. *Metodi di ricerca dell'albumina a freddo: dato il loro numero mi limiterò ai più importanti:*

A) Metodo del ferrocianuro: 5 cc. di urine + gocce di acido acetico (allo scopo di precipitare la nucleo-albumina e la mucina che vengono così eliminate colla filtrazione) + gocce di una soluzione al 3% di ferro-cianuro di potassio: in presenza di albumina si ha un precipitato giallognolo leggermente fioccoso; anche la albumose danno un precipitato ma esso scompare riscaldando l'urina. Questa reazione è più sensibile della ebullizione.

B) Metodo di Heller. Si mettono in una provetta 2 cc. circa di acido nitrico concentrato e su questo si stratificano 2 cc. circa di urina filtrata avendo l'avvertenza di tenere la provetta molto inclinata e facendo scorrere lentamente l'urina lungo le sue pareti, in modo da evitare la mescolanza di due liquidi: in presenza di albumina al punto di contatto dei due liquidi si forma lentamente un anello bianco fioccoso di altezza variabile dovuto all'albumina coagulata. Questo metodo è buono ma presenta parecchie cause di errore inquantochè un anello bianco simile a quello della albumina può essere dato:

1) dal timolo aggiunto all'urina a scopo di conservazione (si può in tal caso estrarre il timolo dall'urina per mezzo di etere di petrolio);

2) da acidi resinosi (copaive, trementina, ecc.) e in tal caso si scioglie in alcool e in etere mentre se formato da albumina non è solubile in questi liquidi.

L'acido urico e gli urati non danno un anello bianco ma un anello rossastro formato dall'acido urico precipitato. Anche i pigmenti biliari e l'indacano possono dare degli anelli colorati facilmente differenziabili dall'anello bianco formato dalla albumina.

La prova di Heller ci permette anche di differenziare l'albumina vera dalla pseudo-albumina: infatti se l'urina in esame contiene solo albumina vera si forma un solo anello bianco nella linea di separazione tra l'acido nitrico e l'urina mentre se l'urina contiene solo pseudo-albumina l'anello bianco si forma non già al limite di separazione dei due liquidi ma qualche millimetro al di sopra; infine se l'urina contiene sia l'albumina che la pseudo-albumina vedremo formarsi due anelli bianchi, l'uno alla superficie di separazione (albumina) e l'altro qualche millimetro al di sopra (pseudo-albumina).

C) Metodo dell'acido solfosalicilico: a cc. 5 di urina posti in un tubo da saggio si aggiungono 10-20 gocce di una soluzione al 20% di acido solfosalicilico; la presenza di albumina viene rivelata dalla comparsa di un intorbidamento al quale segue un precipitato bianco fioccoso la cui intensità è direttamente proporzionale alla quantità di albumina. L'urina deve essere acida. Questo metodo semplice e pratico presenta però un grave inconveniente: la comparsa di un lieve intorbida-

mento non è patognomonico per la presenza di albumina potendosi avere anche in urine normali; inoltre vengono precipitate anche le albumose (che però si ridisciolgono col riscaldamento).

### 3. *Prova di Spiegler.*

Questa ricerca è specifica per l'albumina. Si versano 5 cc. di urina in una provetta e si aggiungono 5 gocce di acido acetico concentrato. Tenendo inclinata la provetta si stratificano sotto l'urina circa 2 cc. di reattivo di Spiegler, con l'uso di una pipetta. In presenza di albumina, al punto di contatto tra i due liquidi si forma un anello bianco.

(Il reattivo di Spiegler è composto di sublimato corrosivo gr. 8, acido tartarico gr. 4, glicerina gr. 20, cloruro di sodio gr. 10 e acqua gr. 200).

D) Metodo di Reale: a 6 cc. di urina si aggiunge un pezzetto di acido tricloro acetico; agitando si ottiene la precipitazione a freddo dell'albumina; il metodo è sensibilissimo ed altamente specifico.

### 5. *Dosaggio dell'albumina - Metodo di Esbach.*

Nell'albuminometro si mette l'urina filtrata fino al segno U e il reattivo di Esbach (1) fino al segno R. Si chiude col tappo di gomma e si capovolge 2-3 volte. Si lascia riposare per 24 ore. Si legge sulla scala dell'albuminometro il numero corrispondente al limite superiore del sedimento che indica la quantità di albumina presente in grammi per mille di urina.

Il metodo di Esbach presenta il grave inconveniente di richiedere una lunga attesa prima di poter praticare la lettura all'albuminometro. Sono stati perciò proposti dei metodi più rapidi tra i quali ricorderò:

1) Metodo di Reale: cc. 5 di urina + 5 gocce di acido trocloroacetico in soluzione al 20%, si scalda la provetta in modo da precipitare tutta l'albumina, si travasa in un tubo da centrifugo da 10 cc. graduato al centesimo, si centrifuga per 10 minuti e poi si legge il sedimento: ogni 1/2 cc. di deposito corrisponde all'1‰ di albumina.

#### 2) Metodo di Aufrecht:

Il dosaggio si fa in una speciale provetta cilindrica graduata in modo analogo all'albuminometro di Esbach, con le lettere R ed U e una scala indicante il contenuto per cento in albumina della urina in esame; anche il reattivo usato è quello di Esbach ma più concentrato. La prova si esegue come quella di Esbach; poi si centrifuga per 3 minuti e si legge.

---

(1) Il reattivo di Esbach è composto di acido picrico gr. 2, acido citrico gr. 4 sciolti con lento riscaldamento in gr. 200 di acqua distillata.

Questi metodi di dosaggio dell'albumina per contrifugazione presentano di fronte al classico albuminometro di Esbach i seguenti vantaggi:

1) Rapidità del dosaggio (bastano tre minuti).

2) Minima quantità di urina occorrente (4-5 cc.).

3) Precisione di risultati molto vicina a quelli forniti dal dosaggio ponderale.

4) Non rimangono mai fiocchi di albumina sospesi nel liquido (inconveniente che spesso si verifica usando l'albuminometro di Esbach).

## b) Albumose

A 5 cc. di urina limpida, priva di albumina, si aggiungono circa 2 cc. di soluzione satura di cloruro di sodio; indi si aggiungono circa 8-10 gocce di acido acetico concentrato. In presenza di albumose si produce un precipitato che col riscaldamento sparisce per riprecipitare a freddo.

Se l'urina contiene albumina occorre dealbuminizzarla nel modo seguente:

a 10 cc. di urina si aggiungono 5-10 gocce di acido acetico conc. e 5 cc. di una soluzione satura di cloruro di sodio e si fa bollire. Si filtra ancora calda e al filtrato caldo si aggiungono altri 5 cc. di soluzione satura di cloruro di sodio.

Col raffreddamento in presenza di albumose appare un intorbidamento che riscompare col riscaldamento.

## c) Muco pus

Lo si riscontra abitualmente in urine torbide con sedimento spontaneo abbondante per infezioni delle vie urinarie, ecc.

A 10 cc. di urina non filtrata in una provetta grande si aggiungono 2-3 cc. di ammoniaca e si scalda fino all'ebollizione. Imprimendo al tubo un movimento rotatorio si nota una spirale gelatinosa che trascina con sé i fosfati precipitati; oppure, versando il contenuto del tubo in un'altra provetta, si nota che il liquido è diventato denso, gelatinoso e a volte filante.

## d) Pigmenti ematici

### 1°) Prova della Benzidina.

A 5 cc. di urina si aggiungono prima 4-5 gocce del reattivo composto di benzidina gr. 0,25, e acido acetico al 50%, cc. 50, e poi si aggiungono 2-3 gocce di acqua ossigenata. In presenza di pigmenti ematici si ha entro 2 minuti la comparsa di una bella colorazione blu o verde.

## 2°) *Prova del Guaiaco.*

A 5 cc. di urina si aggiungono 5 gocce di acido acetico concentrato 5-6 gocce di soluzione alcoolica al 5% di resina di Guaiaco e 3-4 gocce di acqua ossigenata.

In presenza di pigmenti ematici si ha quasi immediatamente la comparsa di una tinta azzurra.

## e) **Pigmenti biliari**

### 1°) *Metodo di Gmelin.*

Si mettono 2 cc. di acido nitrico-nitroso (1) in una provetta e per mezzo di una pipetta vi si stratifica pian piano l'urina facendola scorrere lungo le pareti della provetta per evitare il miscuglio dei due liquidi. Al punto di contatto si forma un anello verde, sotto il quale si vedono altri anelli di diverso colore, cioè: azzurro, violetto, rosso e giallo, donde a questa prova è stato dato il nome di reazione dell'Piride (1).

La reazione di Gmelin può essere eseguita anche mettendo una o due gocce di acido nitrico-nitroso nella parte centrale di un foglietto di carta da filtro imbevuto di urina: in presenza di pigmenti biliari si formano anelli concentrici colorati nel modo sopradescritto.

### 2°) *Metodo Bonanno.*

G. Bonanno trovò per la ricerca dei pigmenti biliari un reattivo più sensibile di quello di Gmelin. Esso è composto di:

Acido cloridrico concentrato, cc. 10;

Nitrato di sodio, cc. 0,20.

Per prepararlo si mette prima in una boccetta il nitrato di sodio e poi si versa l'acido cloridrico. Dopo aver chiuso bene la boccetta con un tappo smerigliato, si agita fino ad ottenere una soluzione satura giallastra, da cui si sviluppano vapori nitrosi e di cloro. Siccome questo reattivo si altera col tempo, occorre conservarlo in boccia scura a tappo smerigliato e rinnovarlo ogni mese.

### *Esecuzione della reazione.*

Se si aggiungono 2-3 gocce di questo reattivo a 5 cc. di urina, in presenza di pigmenti biliari, si nota una colorazione verde smeraldo, che, agitando il liquido, si diffonde per tutta la massa dell'urina e rimane stabile per lungo tempo.

La reazione è dovuta all'ossidazione della bilirubina in biliverdina. Il reattivo di Bonanno è utile nella semeiologia urinaria perchè è capace di scoprire piccolissime quantità di pigmenti biliari.

---

(1) Questo si può ottenere aggiungendo un pezzetto di legno a 2 cc. di acido nitrico e scaldando leggermente finchè questo assume un colorito leggermente giallo-bruno.

## f) Glucosio

### RICERCA QUALITATIVA.

#### 1°) Metodo di Fehling.

Il reattivo di Fehling è composto di due soluzioni:

- A { Solfato di rame cristallizzato, gr. 34,64;  
Acqua distillata fino a gr. 500.
- B { Potassio idrato, gr. 50;  
Tartrato doppio di sodio e potassio, gr. 173;  
Acqua distillata fino a cc. 500.

Per l'uso si mescolano a parti uguali.

#### *Prova:*

A 5 cc. della miscela di Fehling A e B si aggiungono 5 cc. di urina filtrata e si mescola. Si scalda la parte superiore della provetta fino all'ebollizione. In presenza di zucchero si formerà nella parte riscaldata un intorbidamento di colore che va dal giallo rossastro fino al rosso mattone e dovuto alla precipitazione di ossidulo di rame, per l'azione riducente del glucosio sull'ossido rameico che si forma mescolando le due soluzioni A e B del Fehling.

Molto usato è pure il reattivo di Fehling-Pasteur che consta di una unica soluzione sempre pronta per l'uso e così composta:

- Solfato di rame cristallizzato, gr. 40;
- Potassa caustica, gr. 80;
- Soda caustica, gr. 130;
- Acido tartarico, gr. 105;
- Acqua distillata fino al volume di 1000 cmc.

#### 2°) Reazione di Nyländer.

E' più sensibile del precedente.

Il reattivo di Nyländer è composto di:

- Sottonitrato di bismuto, gr. 2;
- Tartrato doppio di sodio e potassio, gr. 4;
- Soda caustica, gr. 10;
- Acqua distillata, gr. 100.

Si prepara prima la soluzione di soda caustica e di tartrato sodico-potassico, poi si riscalda e durante il riscaldamento si aggiunge il sottonitrato di bismuto.

#### *Prova:*

In un tubo da saggio a 10 cc. di urina si aggiungono 2 cc. di reattivo e si fa bollire. In presenza di zucchero compare un preci-

pitato nero, che diventa più evidente dopo qualche minuto invadendo dall'alto in basso tutta la provetta e che è dovuto alla azione riducente del glucosio sull'idrossido di bismuto con formazione di ossidulo di bismuto e bismuto metallico.

## Metodi di dosaggio del glucosio nelle urine

### 1°) Metodo di Pavy-Fehling:

In un cilindro graduato da 100 cc. si versano successivamente 60 cc. di acqua distillata, 30 cc. di ammoniaca, 5 cc. di Fehling A e 5 cc. di Fehling B. Il liquido così preparato, che ha un bel colore azzurro, viene travasato in un matraccio e portato alla ebullizione: mentre il liquido bolle dolcemente si versa pian piano l'urina mediante una pipetta graduata.

L'aggiunta di urina può essere fatta dapprima abbastanza rapidamente, badando però a non interrompere l'ebullizione, poi quando il liquido comincia a scolorarsi va fatta sempre più cautamente e con maggior lentezza perchè in questo momento la riduzione si svolge più lentamente che in principio e si può quindi facilmente oltrepassare il punto finale della reazione. La reazione si considera terminata quando il liquido bollente che si è andato gradatamente scolorando ad un certo momento diventa del tutto incolore; la completa decolorazione del liquido, punto finale della reazione è di solito facilmente e nettamente riconoscibile. Poichè gr. 0,05 di glucosio riducono completamente l'ossido di rame contenuto nei 10 cc. di reattivo di Fehling basta dividere 50 per il numero dei cc. di urina impiegati per ottenere il tasso di glucosio in grammi per mille.

### 2°) Metodo Benedict.

Per l'analisi quantitativa del glucosio nell'urina, Benedict introdusse il seguente reattivo, composto di:

Solfato di rame, gr. 18;  
Sodio carbonato anidro, gr. 100;  
Citrato di sodio, gr. 200;  
Sol. ferrocianuro potassio al 5%, cc. 5;  
Solfocianato di potassio, gr. 125;  
Acqua distillata fino a cc. 1000.

Questo reattivo si prepara nel modo seguente:

Si sciolgono a caldo il citrato di sodio, il carbonato di sodio ed il solfocianato di potassio in 800 cc. di acqua, in un pallone tarato da 1 litro e si filtra.

Si scioglie separatamente il solfato di rame in 100 cc. di acqua e si unisce alla prima soluzione, agitando sempre. Si aggiunge poi la

soluzione di ferrocianuro di potassio, si lascia raffreddare e finalmente si porta a 1 litro. Si tenga presente che 25 cc. del reattivo sono ridotti da 0,05 gr. di glucosio. Lo scopo del solfocianato di potassio è quello di avere un precipitato bianco di solfocianato di rame, per poter facilmente osservare il termine della reazione. Il dosaggio si effettua nel modo seguente.

*Tecnica.* — A 25 cc. del reattivo si aggiungono 10 o 20 gr. di carbonato di sodio cristallizzato (allo scopo di aumentare l'alcalinità della soluzione e di poter quindi cogliere più facilmente il momento finale della reazione) con una piccola quantità di pietra pomice finemente polverizzata.

Si riscalda il miscuglio in un pallone da 150 cc., e quando incomincia a bollire, si lascia defluire rapidamente da una buretta di urina diluita 1 a 10, finchè si produce un precipitato bianco ed il colore bleu della soluzione sparisce completamente.

*Calcolo.* — Sapendo che 25 cc. del reattivo sono ridotti da 0,05 gr. di glucosio il tasso per mille di glucosio nell'urina è uguale a 0,05 diviso per il numero di cc. di urina impiegata (cioè quella diluita 1 a 10, divisa per 10) moltiplicato per mille.

$$X = \frac{0,05}{\text{N}^\circ \text{ cc. urina pura}} \times 1000$$

*Determinazione polarimetrica.* — Per l'esame polarimetrico l'urina deve essere perfettamente limpida e chiara e non contenere molto pigmento od altre sostanze, all'infuori del glucosio, che siano capaci di deviare la luce polarizzata. Perciò si mettono in una grande capsula di porcellana o in una bevuta da 500 cc. circa 50 cc. di urina contenente glucosio e circa 30 gr. di carbone animale decolorante. Si agita bene e si scalda alla fiamma per 2-3 minuti senza però arrivare all'ebollizione. Si filtra attraverso un doppio filtro di carta, si raccoglie il filtrato incolore in una bevutina e si lascia raffreddare.

Nel contempo si prepara il polarimetro: questo consta di una specie di canocchiale portante in avanti un prisma polarizzatore e indietro dalla parte dove si osserva, un prisma analizzatore collegato a un grande disco graduato sul quale scorre il nonio per l'indicazione del grado di deviazione avuta all'esame. I due prismi sono collegati da un tubo cavo con la parete superiore apribile per permettere di collocarvi il tubo speciale che contiene il liquido da esaminare. Questo tubo è di vetro ed è chiuso all'estremità da due tappi metallici forati alla base e resi a chiusura perfetta mediante un anello di gomma, e da un disco di vetro speciale.

Ecco come si procede all'esame polarimetrico:

Si chiude il tubo del polarimetro con un tappo solo e lo si poggia su un tavolo in posizione verticale, con l'apertura in alto. Con una pipetta si riempie completamente il tubo fino a farlo traboccare.

Afferrando il disco di vetro del tappo con due dita lo si fa scorrere, con rapida manovra sull'estremità del tubo in modo da chiuderlo senza lasciare bolle d'aria. Fatto ciò si mette il tappo metallico.

Si adagia il tubo di vetro così preparato nel tubo cavo del polarimetro e si chiude la parte superiore. Si guarda in camera oscura attraverso l'oculare in direzione di una fiamma a gas sulla quale si fa bruciare del cloruro di sodio per avere una fiamma monocromatica, e si gira il nonio già messo a zero del disco graduato finchè le due metà del campo visivo acquistano l'identica tinta. Si segna il numero dei gradi di deviazione indicata dal nonio sul disco graduato e si procede al calcolo nel modo seguente:

$$C = \frac{A}{(a) L} \times 1000$$

in cui:

C è la quantità per mille di glucosio;

A è l'angolo di deviazione avuta;

(a) la deviazione specifica del glucosio (+52,5);

L è la lunghezza del tubo del polarimetro in decimetri (comunemente è di 1 decimetro).

Usando un saccarimetro si ottiene direttamente il tasso di glucosio nell'urina dalla scala graduata del disco.

## g) Acetone

### 1°) Prova di Legal.

Per ricercare l'acetone nelle urine si usa generalmente la reazione di Legal.

A circa 5 cc. di urina in esame si aggiungono 5 gocce di nitroprussiato di sodio al 10% e quindi qualche goccia di una soluzione di soda caustica al 20%. Compare allora una colorazione rossa più o meno intensa che, almeno in parte, è costantemente dovuta alla presenza normale di creatinina. Si aggiungono subito dopo 5 gocce di acido acetico conc. (se l'aggiunta non è immediata la colorazione rossa si trasforma spontaneamente in gialla).

In presenza di acetone il color rosso acquista una tinta rosso lampone; se non c'è acetone il color rosso scompare e passa al giallo verdognolo ed è dovuto unicamente alla creatinina.

## 2°) Metodo.

A 5 cc. di urina si aggiungono 5 gocce di una soluzione al 10% di nitroprussiato sodico e circa 10 gocce di acido acetico glaciale.

Mediante una pipetta si stratifica sopra l'urina dell'ammoniaca; al punto di contatto in presenza di acetone si produce un anello rosso lampone.

## h) Acido diacetico

Il saggio per la ricerca dell'acido diacetico deve essere eseguito su di urine emesse di recente, in vista della rapida decomposizione dell'acido diacetico che si scinde in acetone ed anidride carbonica.

### *Reazione di Gerhardt.*

Si trattano 5-6 cc. di urina, se necessario, debolmente acidificata e filtrata, con 4-5 gocce di una soluzione molto diluita (5%) di percloruro di ferro fino a che si forma un precipitato giallognolo di fosfato di ferro. Quindi si filtra ed al filtrato si tornano ad aggiungere 2-3 gocce della soluzione di percloruro di ferro. In presenza di acido diacetico il filtrato si colora in rosso Bordeaux, questa colorazione deve scomparire dopo 2 minuti di ebollizione.

Si tenga presente che certe urine medicamentose (contenenti salicilato di sodio, antipirina, fenolo, ecc.) danno la stessa reazione.

Per stabilire se veramente l'urina contiene acido diacetico si procede nel seguente modo:

Si fa bollire un po' dell'urina in esame per qualche tempo, quindi si lascia raffreddare e si ripete la prova col percloruro di ferro nel modo detto sopra.

Ora poichè colla ebollizione del liquido urinoso l'acido diacetico si decompone in acetone ed anidride carbonica, la reazione di Gerhardt non deve più prodursi. Se invece la reazione di Gerhardt dopo l'ebollizione è ancora francamente positiva vuole dire che la reazione è dovuta a qualcuna delle sopraindicate sostanze medicamentose contenute nell'urina.

## i) Urobilina

L'urobilina è un pigmento essenzialmente caratterizzato dalla proprietà di dare sia in soluzione cloroformica od eterea che in soluzione ammoniacale una intensa fluorescenza verde per aggiunta di un sale di zinco (occorre una soluzione composta di cloruro di zinco gr. 10 sciolto in 20 cc. di acqua e aggiungendo poi 80 cc. d'alcool a 95°).

*Ricerca.* — A 20 cc. di urina si aggiunga 2-3 gocce di acido nitrico e 3-5 di cloroformio. Si agita bene in modo da estrarre tutta l'urobilina

presente e si lascia riposare per fare depositare il cloroformio. Poi si decanta il liquido soprastante al deposito, si aggiunge a gocce ed agitando sempre, dell'alcool a 96° fino a soluzione completa. Si versa metà del tutto in un altro tubo e a uno di questi si aggiungono 10 gocce della soluzione alcoolica di cloruro di zinco.

In presenza di urobilina si ha una fluorescenza verde più o meno intensa che manca nell'altro tubo.

2<sup>a</sup> Prova. — A 20 cc. di urina si aggiungono 10 cc. di etere solforico e si sbatte bene. Si lascia riposare e poi si decanta l'etere in una capsula di porcellana e si evapora a bagnomaria sotto la cappa per evitare il pericolo dell'accensione dei vapori di etere a contatto di una fiamma.

Al residuo secco si aggiunge 1 cc. della soluzione alcoolica di cloruro di zinco. Osservando il liquido su fondo scuro, in presenza di urobilina si ha una fluorescenza verde molto sensibile.

3<sup>a</sup> Prova - Metodo di Oliviero. — Si trattano 3 parti di urina con una parte di un reattivo preparato nel modo seguente: 10 gr. di cloruro di zinco si sciolgono in circa 30 cc. di ammoniaca e si aggiungono poi 80 cc. di alcool etilico all'80 % e 20 cc. di etere acetico.

Si agita fortemente e si filtra. In presenza di urobilina il filtrato presenta una fluorescenza verde più o meno spiccata.

N. B. — L'urina normale contiene urobilina in tracce infinitesimali e perciò non svelabili coi metodi di ricerca sopradescritti; perciò se con uno di questi metodi si riscontra presenza di urobilina, anche in tracce, non si può parlare di urobilinuria fisiologica.

## l) Indacano

### 1. — Metodo Jaffè.

In una provetta si mettono 5 cc. di urina e 5 cc. di acido cloridrico fumante, più 3-4 gocce di una soluzione di cloruro di calcio al 10% e 2 cc. di cloroformio. L'indacano trattato con HCl concentrato si sdoppia dando l'indossile che per ossidazione si trasforma in sostanza colorante l'indigotina.

Si agita bene e si lascia riposare. Il cloroformio si raccoglie al fondo della provetta trascinando con sé l'indigotina o azzurro d'indaco che è solubile nel cloroformio. Se esso acquista un colore azzurro più o meno intenso significa che esiste un aumento dell'indacano urinario, superiore alle tracce normali.

### 2. — Metodo Jaffè modificato.

Si pratica la prova già descritta usando 1-2 gocce di acqua ossigenata al posto della soluzione di cloruro di calcio al 10 % e si procede nello stesso modo.

Il cloroformio depositato in questo caso ha normalmente una tinta leggermente azzurra dovuta alle tracce normalmente esistenti nell'urina (mmgr. 6,6°/‰). Si deve considerare come aumentata l'indacaturia solamente se il cloroformio acquista un netto colore azzurro.

### Esame microscopico

L'urina contiene normalmente in sospensione degli elementi epiteliali di sfaldamento delle mucose delle vie urinarie, qualche leucocito ben conservato, scarsi filamenti di muco e rari elementi cristallini. In casi patologici e per alterazioni dell'urina emessa da molto tempo possiamo riscontrare molti altri elementi.

Per procedere all'esame microscopico del sedimento urinario si riempie una provetta da centrifuga con l'urina in esame, avendo cura di agitarla bene per mescolare anche l'eventuale deposito spontaneo di sedimento. Si centrifuga a bassa velocità per 5 minuti e dopo avere decantato tutta l'urina limpida si porta una goccia del sedimento su un vetrino porta oggetti, con l'aiuto di una pipettina e si copre con un vetrino copri oggetti. Si osserva al microscopio con obiettivo a secco prima a piccolo ingrandimento per individuare i vari elementi, passando poi ad un ingrandimento più forte per studiarne più minutamente i caratteri in caso di incertezza nel riconoscimento di essi.

#### A) *Elementi cellulari.*

1) Cellule di sfaldamento della vescica e uretra: sono grandi, pavimentose, piatte con grosso nucleo.

2) Cellule degli organi genitali femminili specie della vagina: grandi poligonali, pavimentose, piatte con piccolo nucleo.

3) Cellule superficiali del bacinetto. Sono generalmente globulari o ovoidali con grosso nucleo o quasi sempre caudate in modo da assumere la forma di una racchetta, spesso riunite a gruppi.

Sono poco più grandi di un comune leucocito. Differiscono dalle cellule di sfaldamento vescicale che a volte assumono la stessa forma, perchè queste ultime sono assai più grandi e piatte.

Si riscontrano raramente.

4) Cellule renali. - Sono pallide, di grandezza poco superiore a quella di un leucocita, poligonali con angoli smussi spesso unite a gruppi.

Hanno scarso protoplasma granuloso e grosso nucleo con un nucleolo. Possono trovarsi aderenti ai cilindri e formare i cilindri epiteliali. Sono l'espressione di un processo infiammatorio del parenchima renale e si associano ad altri reperti patologici, come, la cilindruria, albuminuria, ecc. Si riscontrano raramente.

5) Emazie. - Si presentano come anelletti poco rifrangenti con doppio contorno, visibili con scarsa luce, colorate in giallo pallido

(nelle urine fresche) o scolorate. Possono essere deformate assumendo la forma di globuli sferici con o senza infossamenti e nelle urine molto concentrate si possono presentare a contorno dentellato (emazie spinose). Non bisogna confonderle con alcuni elementi cristallini (ossalati) che sono molto rifrangenti e quindi facilmente visibili con luce forte, nè con dei saccaromiceti che possono trovarsi in urine lasciate allo scoperto per un po' di tempo. Questi saccaromiceti sono spesso leggermente ovoidali e presentano un nucleo eccentrico molto rifrangente di colorito verdognolo. Aggiungendo al sedimento una goccia di soluzione acquosa di bleu di metilene all'1 % e osservando al microscopio si vede che i saccaromiceti presentano il nucleo intensamente colorato bleu, gli elementi cristallini restano scolorati e le emazie assumono una lieve tinta bluastra.

6) Leucociti. - Sono globuli sferici, biancastri, molto granulosi con uno o più nuclei. Possono essere anche in preda a disfacimento, in tal caso il loro contorno è irregolare, sfumato.

7) Globuli di Pus. - Sono leucociti in stato di degenerazione grassa, pieni perciò di goccioline fortemente rifrangenti di grasso; gli elementi nucleari sono poco evidenti. Sono l'espressione di un processo purulento e quindi se presenti in grande numero sono accompagnati ad abbondante muco.

B) *Cilindri*. — Si distinguono in veri e falsi.

1) Cilindri veri:

a) Cilindri ialini. - Sono corpi di aspetto omogeneo molto rifrangenti, incolori, di forma allungata a margini netti, a limiti retti o curvi, di lunghezza variabile, spesso corti.

Si osservano bene nelle urine fresche, con scarsa luce, chiudendo molto il diaframma del condensatore. Nelle urine alcaline per fermentazione ammoniacale i cilindri non si trovano perchè sono solubili in soluzione alcalina. Si possono rendere più visibili colorando il sedimento con qualche goccia di soluzione di Lugol (composta di iodio gr. 1, Ioduro di potassio gr. 2 e acqua distillata gr. 100). Con questa i cilindri assumono un colorito giallo omogeneo.

b) Cilindri granulosi. - Sono un po' più grossi e più irregolari di quelli ialini e formati da granulazioni finissime o grossolane.

Essi si riscontrano sempre nei processi renali cronici.

c) Cilindri di grasso. - Hanno i caratteri di cilindri granulosi in cui i granuli vengono sostituiti da goccioline di grasso che si colorano in giallo trattando il sedimento con una goccia di soluzione alcoolica di Safranina all'1 %, in nero con l'acido Osmico ed in rosso-mogano con la tintura di iodio. Sono l'espressione di una degenerazione grassa del rene nei processi cronici.

d) Cilindri epiteliali. - Sono dei cilindri ialini ricoperti di cellule epiteliali renali.

e) Cilindri ematici. - Sono cilindri di altra natura (ialini, granulosi) ricoperti di emazie.

f) Cilindri cerei (Amiloidi). - Somigliano ai cilindri ialini ma sono un po' più larghi, più corti e ondulati, molto rifrangenti e di colorito giallognolo. Si hanno sempre nelle affezioni croniche. Con la soluzione di Lugol assumono un colorito rosso bruno.

g) Cilindri misti. - Hanno il carattere di due o più cilindri: ialino-granuloso, ialino-epiteliali ecc.

## 2) Cilindri falsi o pseudocilindri:

Si distinguono dai veri per la loro origine e la composizione. Sono formati da elementi vari disposti in modo da assumere la forma di cilindri, ma non hanno la forma regolare nè i caratteri di questi. Si distinguono in:

cilindri ialini, composti di urati amorfi;

cilindri fibrinosi - composti da fasci di fibre ondulate;

cilindri batterici;

cilindri grassi - per accumulo di goccioline di grasso, nella lipuria.

Cilindroidi. - Sono più lunghi dei veri cilindri, a decorso ondulato con estremità spesso sciolte in fibrille e posseggono una striatura longitudinale.

Alle volte l'osservazione microscopica del sedimento viene ostacolata dal deposito abbondante di urati che coprono tutti gli elementi del sedimento. Si pone riparo a questa difficoltà provocando la soluzione degli urati nel modo seguente: si riempie per tre quarti il tubo da centrifugare con l'urina da esaminare, dopo averla mescolata bene. A questa si aggiunge, a poche gocce alla volta, una soluzione satura di fosfato bisodico agitando bene dopo ogni aggiunta finchè l'urina diventa limpida per la soluzione degli urati. Si centrifuga e si osserva il sedimento. In questo modo non vengono alterati i vari elementi del sedimento come potrebbe avvenire provocando la soluzione degli urati con l'aggiunta di acidi o con i lavaggi.

(1) (La soluzione di fosfato bisodico si ottiene sciogliendo a caldo in 100 cc. di acqua circa gr. 50 di fosfato bisodico crist., lasciandolo raffreddare e poi filtrando).

C) *Elementi chimici.* — Sono costituiti da elementi cristallini precipitati per cause varie. I più comuni sono:

1) Cristalli di Ossalato di calcio a forma di ottaedri, detti a busta da lettere, per la forma quadrata con una croce in mezzo (croce di Sant'Andrea) più di rado assumono la forma ovale.

2) Acido urico. - Grossi cristalli gialli in varie forme di cristallizzazione (rosette, aghi, tavole-rombi).

3) Urati - Urato di Sodio. - Finissimi granuli incolori riuniti ad ammassi.

Urato di Ammonio. - Si riscontra in urine alcaline per fermentazione ammoniacale. Assume la forma di sferette spinose gialle isolate o riunite in ammassi.

4) Fosfato triplo Ammonico-magnesiaco. - Anche queste si riscontrano solamente nelle urine fermentate; sono grossi cristalli incolori a forma di coperchio di bara.

Più rare sono le seguenti formazioni cristalline:

5) Solfato di Calcio. - Aghi o prismi sottili, incolori, spesso riuniti a rosette.

6) Fosfato di Calcio. - Sono aghi acuminati spesso riuniti a rosette, incolori. Trattando il sedimento con qualche goccia di acido acetico concentrato si sciolgono mentre il solfato di calcio non è solubile.

7) Carbonato di Calcio. - Si riscontra solo in urine alcaline a forma di piccole sfere bianche riunite ad ammassi. Acidificando il sedimento esso si scioglie con produzione di gas.

8) *Amino - Acidi*. - Sono l'espressione di un alterato ricambio proteico.

a) *Leucina* - sferette giallastre a cristallizzazione radiata, isolate o riunite.

b) *Cistina* - tavole esagonali assai sottili scolorate.

c) *Tirosina* - aghi sottili ordinati a ciuffi, giallo-bruni.

### III. - RICERCHE SULL'ESPETTORATO

#### RICERCA DEL BACILLO DI KOCH

Questa ricerca ha lo scopo di rivelare la presenza dei bacilli di Koch nell'espettorato.

E' bene che l'espettorato venga emesso in presenza del medico analista dopo che il soggetto si sia ben sciacquata la bocca e fatto ripetuti gargarismi per eliminare la flora orale, giacchè con gli alimenti possono essere introdotti in bocca alcune forme batteriche banali, per es. i bacilli del burro, che hanno le qualità tintoriali del bacillo di Koch.

Però la stessa ragione e anche per una più facile ricerca occorre scegliere per l'esame un grumo-muco purulento dell'espettorato scaricando il catarro mucoso semplice.

Con l'aiuto di un'ansa di platino si porta un'ansata del materiale in esame su un vetrino porta-oggetti e con un movimento rotatorio si distende in sottile strato al centro del vetrino.

Si passa tre volte sulla fiamma Bunsen per fissare il materiale sul vetrino e poi si procede alla colorazione nel modo seguente:

##### *Metodo di Ziehl-Nielsen.*

Si copre il vetrino con una soluzione di Ziehl-Nielsen (ottenuta sciogliendo un grammo di fucsina basica in 10 cc. di alcool e poi si aggiungono 90 cc. di una soluzione di fenolo al 5%). Si scalda il vetrino sulla fiamma fino ai primi vapori della soluzione colorante e si lava con acqua di fonte. Si procede allo scolorimento del preparato coprendolo per pochi secondi con una soluzione di acido nitrico al 30% o acido solforico al 20% e poi con alcool a 95° fino a scolorimento completo. Si lava di nuovo e si fa la colorazione di contrasto coprendo il vetrino con una soluzione acquosa di bleu di metilene all'1% per due minuti.

Si lava, si asciuga con carta bibula, e, quando il preparato è ben asciutto, si osserva al microscopio con la lente di immersione.

I bacilli di Koch si colorano in rosso porpora e gli elementi di contrasto in bleu.

# ESAME RADIOLOGICO

(Dr. T. Ricciotti)

Medico di Direzione I. N. A.



Corporate Heritage  
& Historical Archive



## CONSIDERAZIONI GENERALI

L'indagine radiologica del torace comprende: la radioscopia e la radiografia. Perchè un esame possa dirsi completo è necessario ricorrere ad entrambi i mezzi di ricerca e lo studio radioscopico deve sempre precedere la presa dei radiogrammi.

Poichè la luce emessa dallo schermo fluorescente impressiona la retina laterale (bastoncelli) laddove per la mancanza della visione netta degli oggetti è possibile avere percezione più facile dei fenomeni di movimento che non di quelli statici, non si può richiedere alla radioscopia l'esame di dettaglio. Perciò la radioscopia serve per lo studio degli organi durante i movimenti e per rilevare al più lesioni grossolane (opacità estese ed intense, caverne con o senza livelli liquidi, ecc.). Inoltre la radioscopia può dare preziose indicazioni sulla sede e sulla densità di certe ombre, indicazioni che potranno essere utili per giudicare quale proiezione è la più conveniente per la radiografia successiva. Infine la radioscopia può servire per ricavare i tracciati ortodigrafici nello studio radiologico del cuore (v. appresso).

La radioscopia si esegue con raggi di piccola intensità (4.5 m A) e con tensione variabile da 40 a 60 Kv. a seconda dello spessore del soggetto e della trasparenza della parte che si deve esaminare. E' necessario che nella stanza il buio sia perfetto e che l'occhio dell'osservatore sia completamente adattato alla oscurità per poter percepire l'immagine sullo schermo.

Ottenuta la visione d'insieme del torace bisogna poi diaframmare il più possibile per avere immagini più nette e per proteggere la propria persona e quella del paziente dall'azione nociva dei raggi. Per questo motivo ed anche per salvaguardare il tubo la radioscopia va sempre limitata al tempo strettamente necessario, sospendendo di tanto in tanto per qualche secondo l'esame.

Dopo aver esaurito lo studio radioscopico si passa alla radiografia. Questa ricerca permette — come si è detto — il rilievo dei dettagli;

essa è quindi della massima importanza per lo studio radiologico del caso.

Per eseguire un radiogramma occorre considerare vari fattori:

a) *Intensità del fascio radiante*: esprime la quantità dei raggi X. Si misura in milliamperes (mA) segnati da un amperometro il quale si trova inserito nel circuito del tubo. L'intensità dei raggi X varia a seconda le regioni e gli organi da esaminare; piccola (20.30 mA) per le ossa, grande (50.150 mA) per il torace, lo stomaco, i reni, ecc.

b) *Penetrazione del fascio radiante*: esprime la qualità dei raggi X. Si misura in Kilovolts (Kv) che si leggono — riportati in Volts — sul tavolo di manovra dell'apparecchio. Poichè la penetrazione varia col variare dell'intensità, ogni Casa costruttrice fornisce una tabella in cui si leggono, espressi in Volts al tavolo, i valori dei Kilovolts per ogni determinato milliamperaggio. La penetrazione dei raggi varia in funzione di vari fattori tra cui meritano speciale considerazione la densità e lo spessore della regione del corpo in esame. E' naturale che non si possono usare raggi di eguale durezza per un polmone (per cui bastano raggi molli, trattandosi di tessuto aereato) e per un rene (organo compatto che richiede raggi più duri). Egualmente, per quanto riguarda lo spessore, occorreranno raggi meno penetranti per una mano, più penetranti per un bacino.

c) *Tempo di posa*: si esprime in secondi o frazioni di secondo e si regola sull'orologio posto sopra il tavolo di manovra.

Anche il tempo di posa dipende da vari fattori:

1°) qualità dei raggi X: tempo più lungo per raggi molli, più breve per raggi duri;

2°) quantità dei raggi X: tempo più lungo per raggi di piccola intensità e viceversa;

3°) distanza del tubo dalla lastra: il tempo di posa deve tener conto che l'intensità di un fascio radiante è inversamente proporzionale al quadrato della distanza del tubo dalla lastra;

4°) regione del corpo e suo spessore: il tempo di posa varia secondo la densità e lo spessore della regione da radiografare;

5°) sensibilità della pellicola: il tempo di posa varia secondo la sensibilità della pellicola (normale o ultrarapida).

Da tutto questo si conclude che non è possibile stabilire regole fisse. Ognuno dalla conoscenza dei propri apparecchi e dei propri tubi potrà regolarsi secondo i casi.

d) *Distanza che intercede tra il fuoco dell'ampolla e la lastra sensibile* (distanza fuoco-lastra): si misura col centimetro.

Poichè l'immagine radiologica è formata da una proiezione conica, per ridurre al minimo l'ingrandimento è necessario ricorrere a due accorgimenti:

1°) ridurre al minimo la distanza tra oggetto e lastra sensibile; ciò vuol dire che la parte da radiografare dovrà essere bene aderente alla lastra;

2°) aumentare la distanza che intercede tra il tubo e la parte da radiografare. Tanto più lontano è il tubo, tanto minore è l'ingrandimento dell'immagine per la diminuzione della divergenza, fino a che a due metri di distanza la divergenza è così piccola che i raggi possono considerarsi paralleli. Tuttavia non si può portare l'allontanamento dell'ampolla oltre un certo limite senza aumentare contemporaneamente l'intensità radiante per la nota legge, che l'intensità decresce col quadrato della distanza.

Inoltre bisogna tener conto della *posizione* del soggetto che può essere eretta, supina, prona, ecc., e della *proiezione* intendendo con questo termine la direzione secondo cui i raggi attraversano il corpo: così ad es. « proiezione dorso-ventrale » significa che i raggi entrano dal dorso ed escono dal petto, ecc.

La regione da radiografare deve essere in *immobilità assoluta*, cosa indispensabile se si vogliono ottenere buoni radiogrammi privi di doppi contorni ed a limiti netti.

Per le parti che si muovono con gli atti respiratori, come il torace e i visceri addominali, è necessaria la radiografia in *apnea in- od espiratoria*.

Infine per evitare gravi deformazioni dell'immagine è necessario che il *raggio normale* (che rappresenta l'asse del cono dei raggi, parte dal centro dell'anticatodo ed è perpendicolare al piano della parte da radiografare e alla lastra) cada *nel centro della regione in esame*.

## Esame del polmone

S'incomincia con l'osservare il soggetto sotto lo schermo fluorescente. Le proiezioni possono essere infinite, ma in genere per il polmone ci si contenta della proiezione dorso-ventrale, facendo sì che l'individuo tenga il petto sullo schermo e i raggi lo attraversino dal dorso. Sedute brevi, non oltre qualche minuto, allo scopo di non sovraccaricare il tubo e di esporre il meno possibile ai raggi il medico e il paziente.

Un errore in cui troppo spesso si cade è questo: s'inizia la radioscopia immediatamente dopo che si è fatto il buio nell'ambiente. In tal modo la visione è debole e incerta poichè la retina non ha ancora avuto il tempo di adattarsi all'oscurità. E' necessario invece lasciar trascorrere nell'oscurità completa almeno 5 minuti prima di lasciar partire i raggi.

Con la radioscopia si osserva:

a) se vi sono deformità toraciche (deviazioni della colonna, restringimenti degli spazi intercostali, ecc.);

- b) se il mediastino è in sede;
- c) se i due campi polmonari sono egualmente trasparenti e diventano più luminosi nell'inspirazione;
- d) se le basi si espandono con gli atti respiratori;
- e) se gli apici si rischiarano sotto i colpi di tosse;
- f) se vi sono strutture e formazioni anormali che si muovono con gli atti respiratori (opacità, cisti, versamenti, pneumotorace, caverne, ecc.).

Dopo l'esame d'insieme si passa all'esame particolareggiato delle diverse regioni diaframmando il fascio Roentgen quanto basti ad illuminare le parti che interessano.

Praticata la radioscopia la quale — sia detto ancora una volta — serve solo come ricerca di orientamento per mettere in luce i fenomeni di movimento e le variazioni di densità delle parti per effetto di questi, nonché a dimostrare lesioni di cospicua e media entità, si passa alla radiografia la quale solamente può fornire preziosi dettagli nello studio radiologico del polmone.

La radiografia del polmone va eseguita a soggetto in posizione eretta. Sebbene dal punto di vista tecnico questa posizione non sia l'ideale perchè l'individuo facilmente si muove, la stazione eretta è preferita per molteplici vantaggi. In essa tutti gli organi assumono determinati rapporti fissi, il diaframma viene abbassato aumentando il diametro verticale dei campi polmonari e scoprendo in parte le sezioni posteriori delle basi; l'immagine cardiaca viene allungata e dà un certo guadagno e infine se c'è una cavità con liquido e gas, questa, nella posizione eretta, si rende visibile poichè si può apprezzare, grazie alla differente radiotrasparenza, il livello liquido al disotto della bolla gassosa.

La proiezione è dorso-ventrale, ossia l'individuo è messo col petto bene aderente alla lastra poggiando col mento sul lato superiore mentre i raggi penetrano dal dorso; mani sui fianchi col pollice in avanti, gomiti spinti all'innanzi (si ottiene in tal modo una maggiore visibilità dei campi polmonari escludendo l'ombra delle scapole). Questa proiezione si usa perchè il cuore è più vicino allo sterno che alla colonna vertebrale e perciò la sua immagine viene meno ingrandita.

La distanza che secondo la maggioranza degli autori consente i migliori risultati è quella di m. 1,50 calcolata dal fuoco dell'ampolla alla superficie della lastra radiografica.

Raggio centrale normale alla lastra ed incidente sull'apofisi spinosa della quarta-quinta vertebra dorsale.

Il soggetto deve essere in apnea inspiratoria, ciò perchè l'aria inspirata aumenta la luminosità dei campi polmonari grazie alla forte emissione di raggi secondari e rende così più visibili eventuali opacità. A tale uopo si invita il soggetto a fare un ampio respiro e a trattenere l'aria nella massima inspirazione.

Lastra 30×40 cm. disposta per lungo o per largo a seconda la costituzione del soggetto e la forma del torace (per lungo nel longitipo, per largo nel normo e nel brachitipo).

Il tempo di posa deve essere molto breve: 0,1-0,2 secondi. Questo è un fattore essenziale per la buona riuscita perchè il cuore, i grossi vasi e i vasi polmonari che formano in larghissima parte il disegno del polmone sono pulsanti e con una posa lunga il radiogramma si presenterebbe a contorni incerti e sfumati.

Si adoperano raggi relativamente molli, data la tenue struttura dell'organo che interessa studiare: 55-65 Kv.

L'intensità del fascio Roentgen deve essere forte, dato il breve tempo di posa; si ricorre perciò in genere a 80-100 mA.

Riassumendo dunque i dati tecnici per ottenere il *radiogramma standard* del polmone sono i seguenti:

Soggetto in posizione eretta. Apnea inspiratoria. Proiezione dorso-ventrale. Incidenza sulla IV-V vertebra dorsale. Distanza fuoco-lastra m. 1,50. Tensione: 55-65 Kv. Intensità: 80-100 mA. Tempo di esposizione: uno o due decimi di secondo.

Nella stragrande maggioranza dei casi il radiogramma ottenuto con la tecnica suesposta fornisce elementi sufficienti per risolvere il quesito diagnostico. Tuttavia importa talora per uno studio particolareggiato di determinate regioni ricorrere a delle proiezioni speciali. Di queste vanno ricordate una proiezione speciale per gli apici e una proiezione speciale per le basi.

Per lo studio degli apici si ricorre alla proiezione obliqua di Albers-Schönberg con cui si riesce a liberare gli apici dall'ombra delle clavicole che nel radiogramma standard in proiezione D.V. disturba la visione completa di questa parte tanto importante del polmone.

Lastra 24×30 cm. Soggetto supino, a testa estesa e con le spalle appoggiate sullo chassis. L'ampolla è spostata verso il capo in modo che il raggio centrale debba passare per l'incisura giugulare del manubrio sternale; perchè questo si abbia è necessaria un'inclinazione dell'ampolla in senso cranio-caudale di circa 20 gradi sul piano orizzontale.

Occorre però tener presente che la tecnica radiografica dell'apice è molto difficile ed infida e per ottenere risultati positivi bisogna ripeterla pazientemente più volte, variandola opportunamente (Busi).

Meno usate sono le proiezioni speciali per lo studio delle basi: si può ricorrere alle proiezioni complementari del Vespignani.

Soggetto supino su di un piano inclinato. Chassis posto sotto il dorso in corrispondenza dell'emitorace da esaminare. Si fanno due radiogrammi 24×30 cm., uno per ciascun emitorace. L'ampolla è posta a 80 cm. di distanza, al di sopra della spalla, ed è orientata in maniera tale che il raggio centrale venga a cadere verticalmente sopra la testa dell'omero.

In casi speciali si può ricorrere all'impiego di mezzi di contrasto trasparenti ed opachi (pneumotorace diagnostico, iniezione di olio iodato, ecc.) ma si tratta di procedimenti tecnici di cui ci si serve raramente e che richiedono una preparazione adeguata.

## Esame del cuore e dei grossi vasi

Anche in questo esame l'indagine radioscopica deve assolutamente precedere lo studio radiografico.

La visione dell'ombra cardiaca sullo schermo fluorescente ha grande importanza poichè dà un'idea della funzionalità di quest'organo vitale. Anche qui le proiezioni possono essere infinite, secondo le diverse esigenze del caso. Tuttavia in pratica si ricorre all'esame dell'organo del circolo in tre proiezioni: dorso-ventrale, obliqua anteriore destra e obliqua anteriore sinistra.

S'incomincia con la proiezione dorso-ventrale (DV): si osserva: a) sede; b) forma; c) volume; d) spostamenti passivi; e) pulsatilità del cuore in toto e nelle sue sezioni corrispondenti alle singole cavità.

Poi si invita il soggetto a compiere un quarto di giro (45°) verso destra in modo da avvicinare la spalla sinistra allo schermo (posizione del boxeur): in questa proiezione obliqua anteriore sinistra (OAS) si vedono bene l'atrio e il ventricolo sinistro, l'aorta ascendente, l'arco aortico e una parte dell'aorta discendente.

Indi, fatto tornare il soggetto nella posizione di prima (DV), lo si invita a compiere un quarto di giro (45°) verso sinistra in modo da avvicinare la spalla destra allo schermo (posizione dello schermidore): in questa proiezione obliqua anteriore destra (OAD) si vede bene il contorno della faccia anteriore del ventricolo destro e — ciò ch'è molto importante — lo spazio retrocardiaco. Questo spazio (detto pure spazio di Holzkecht) appare chiaro nel torace sano perchè gli organi in esso contenuti — trachea, esofago — sono scarsamente opachi ai raggi X e vengono maggiormente rischiarati per la presenza al davanti e al di dietro di tessuto polmonare.

Oltre all'ombra cardiaca è necessario considerare attentamente l'ombra aortica. Per questo studio le proiezioni migliori sono la DV e la OAS, ma specialmente quest'ultima. Bisogna osservare:

- a) volume;
- b) forma;
- c) regolarità dei contorni;
- d) distanza tra la sommità dell'arco e l'articolazione sterno-clavicolare (normalmente circa 2 cm.);
- e) maggiore o minore opacità del vaso;
- f) presenza di placche calcaree;
- g) qualità e ampiezza delle pulsazioni.

Esaurita l'indagine radioscopica si passa allo studio radiografico. Il più delle volte basta una lastra in proiezione dorso ventrale. Soggetto in piedi col petto bene aderente allo chassis, raggio centrale normale alla lastra e incidente sull'apofisi spinosa della IV-V vertebra dorsale, apnea inspiratoria. Lastra  $30 \times 40$  cm. disposta per lungo o per largo. La distanza deve essere di 2 metri, ciò perchè la radiografia a notevole distanza (teleradiografia) ingrandisce meno l'oggetto potendosi considerare i raggi quasi paralleli e riducendosi quasi a nulla l'ingrandimento dovuto alla proiezione conica. Nello studio radiografico del cuore l'avvicinarsi il più possibile dell'ombra alle dimensioni reali costituisce una condizione assai importante per il rilievo dei diametri cardiaci.

Data la distanza aumentata occorre accrescere l'intensità del fascio radiante per la nota legge del quadrato delle distanze: occorreranno perciò 120-140 m A.

Anche la durezza sarà leggermente aumentata: 60-70 Kv.

Tempo di posa breve come per il polmone: 0,1-0,2 sec.

Riepilogando i dati tecnici per la teleradiografia del cuore sono i seguenti: Soggetto in posizione eretta; apnea inspiratoria; proiezione dorso-ventrale con incidenza sulla IV-V vertebra dorsale; distanza fuocolastra m. 2; tensione 60-70 Kv.; intensità 120-140 m A; tempo di esposizione 0,1-0,2 sec.

Quando si voglia studiare lo stato dello spazio retrocardiaco si ricorre a una lastra in proiezione obliqua anteriore destra, facendo uso — quando è possibile — della radioscopia per stabilire la posizione più conveniente del soggetto. In ogni caso per ottenere l'obliqua dalla dorso-ventrale basta far ruotare l'individuo di  $45^\circ$  sull'asse del corpo. Nella proiezione obliqua il tempo di esposizione deve essere aumentato.

Di una certa importanza è lo studio dei *diametri cardiaci*. Essi sono stati ricavati la prima volta dal Moritz sull'ortodiagramma che si ottiene nel modo seguente: per mezzo di un diaframma limitatore dal fascio conico dei raggi Roentgen viene isolato, grazie ad uno speciale dispositivo, il raggio centrale e questo raggio viene diretto perpendicolarmente al piano frontale del corpo. Si sposta quindi l'ampolla in modo che il raggio centrale venga a cadere sul margine dell'ombra cardiaca tangenzialmente e ne segua tutto il contorno. Ogni punto così determinato viene segnato con la matita cristallografica sul vetro che protegge lo schermo dell'ortoscopio e che è disposto parallelamente alla parete toracica; in tal modo, congiungendo con una linea un certo numero di punti, si ottiene la figura dell'ombra cardiaca come se fosse proiettata da raggi paralleli.

Oggi si usa ricorrere più semplicemente alla teleradiografia, ricerca resa più agevole dall'alta potenzialità degli apparecchi moderni.

Da numerosi esami di confronto eseguiti da Haenisch e Querner per determinare il volume del cuore e la sede dell'itto della punta per

mezzo dell'ortodiagrafia e della teleradiografia è stato stabilito in maniera sicura che il cuore normale nella teleradiografia subisce un ingrandimento solo di pochi millimetri. Perciò praticamente le due ricerche si equivalgono, non avendo importanza le determinazioni di grandezza precise fino al millimetro. Difatti esistono anche nell'individuo normale oscillazioni fisiologiche non trascurabili che possono raggiungere notevoli valori. Per di più coi metodi di misurazione radiologica si studia sull'ombra del cuore proiettata sopra un piano mentre il cuore è un organo a tre dimensioni orientato bizzarramente nel torace e in maniera diversa nei vari individui, perciò l'« area » dell'ombra cardiaca non può essere paragonata al « volume » del cuore trattandosi di grandezze geometriche di ordine diverso. Per queste e per altre ragioni le misure cardiache che fornisce l'indagine radiologica sono da prendersi e da utilizzarsi con estrema prudenza, attribuendo ad esse un significato sicuro solo quando i valori ricavati superano notevolmente i valori medi.

Per stabilire i diametri occorre fissare — oltre il contorno dell'ombra cardiaca — due punti: il punto D che corrisponde all'angolo tra il fascio vascolare (vena cava, aorta) e l'atrio destro, e il punto G che corrisponde alla regione della punta.

I diametri sono i seguenti:

1. Diametro longitudinale: esteso dal punto D al punto G;
2. Diametro medio-laterale destro: compreso tra il punto più sporgente del contorno cardiaco destro e la linea mediosternale;
3. Diametro medio laterale sinistro: compreso tra il punto più sporgente del contorno cardiaco sinistro e la linea mediosternale;
4. Diametro trasverso: costituito dalla somma dei due precedenti.

*(Riporto nella pagina seguente la tabella del Dietlen).*

## APPENDICE

*La radiografia dei denti.* — Si usa il fuoco fine perchè occorrono immagini nette.

La pellicola di piccole dimensioni (cm. 3×4, cm. 4×5) viene introdotta nel cavo orale e tenuta bene aderente alla parete interna del dente in esame dall'indice del paziente stesso.

Il tubo viene inclinato in modo che il raggio centrale cada perpendicolarmente al piano del dente che corrisponde per lo più a quello della pellicola; in tal modo, se l'incidenza è corretta, l'immagine del dente non subirà allungamenti o accorciamenti notevoli.

Per una radiografia dentaria possono ritenersi i seguenti dati:

Distanza fuoco-lastra: cm. 40.

mA 20 = Kv max 50 = T 2 sec.

## Diametri del cuore nell' ortodiagramma

Età	Altezza in cm.	Peso in Kg.	Valori medi e valori limite	Diametro trasversale in cm.	Diametro longi- tudinale in cm
Fanciulli fino a 15 anni	100-110	—	Minimo Medio Massimo	7.5 8 8.5	8 8.5 8.5
	110-120	—	Minimo Medio Massimo	7.5 8.8 9.5	8.5 9.2 10
	120-140	—	Minimo Medio Massimo	8.5 10 11	9 11 12
Adulti (uomini)	150-160	40-50	Minimo Medio Massimo	11 12 13	12 13 14
	160-180	50-75	Minimo Medio Massimo	13 13 15	13 14 15
	180	75	Minimo Medio Massimo	14 14 15	14 15 16
Adulti (donne)	144-155	40-50	Minimo Medio Massimo	10.5 11 11.5	12 12 13
	155-165	50-60	Minimo Medio Massimo	11.5 12 13.5	12 13 14
	165	60	Minimo Medio Massimo	12 13 14	13 14 15

# INDICE

ACCORGIMENTI DI TECNICA . . . . .	Pag. 5
-----------------------------------	--------

## *Sangue.*

1) Glicemia . . . . .	» 7
2) Azotemia . . . . .	» 11
3) Uricemia . . . . .	» 15
4) Siero-diagnosi per la sifilide:	
a) Reazione di flocculazione di Kahn . . . . .	» 17
b) Reazione di intorbidamento di Meinicke (M.T.R.) . . . . .	» 21
c) Reazione di Ide . . . . .	» 23

## *Urine.*

1) Caratteri generali . . . . .	» 30
2) Componenti normali . . . . .	» 31
a) Urea . . . . .	» 31
b) Acido urico . . . . .	» 34
c) Cloruri . . . . .	» 35
3) Componenti anormali:	
a) Albumina . . . . .	» 36
b) Albumose . . . . .	» 40
c) Muco pus . . . . .	» 40
d) Pigmenti ematici . . . . .	» 40
e) Pigmenti biliari . . . . .	» 41
f) Glucosio . . . . .	» 42
g) Acetone . . . . .	» 45
h) Acido diacetico . . . . .	» 46
i) Urobilina . . . . .	» 46
l) Indacano . . . . .	» 47

4) Esame microscopico del sedimento:

a) Elementi cellulari . . . . .	Pag. 48
b) Cilindri . . . . .	» 49
c) Elementi chimici . . . . .	» 50

*Espettorato.*

Ricerca del bacillo di Koch . . . . .	» 52
---------------------------------------	------

*Radiologia.*

Considerazioni generali . . . . .	» 55
Esame del polmone . . . . .	» 57
Esame del cuore e dei grossi vasi . . . . .	» 60
Radiografia dei denti . . . . .	» 62





