GIULIANO DALL'OLIO (*) - ROMOLO M. DORIZZI (**)

La diagnostica chimica della malattia renale nell'Ottocento: reazioni e apparecchi (***)

The chemical diagnosis of the kidney disease in XIX century: reactions and instruments.

Summary - Two major medicine schools appeared in XIX century in Europe since the french physicians preferred the physical methods of investigation while german physicians proposed the use of chemical methods. Claude Bernard (1813-1878) was the first important author who proposed in France the study of physiological chemistry and Johann Lucas Schonlein (1793-1864), clinician in Wurzburg, sustained chemical and microscopical researches in biological fluids.

However, the first «chemical sign» adopted in the diagnostic process was the albuminuria which Richard Bright described in 1827 as the key sign of kidney disease (or Bright's disease). It must be noted that other authors, first of all Domenico Cotugno in 1764, had described that sign without ascribing to it the proper role.

In the middle of XIX century the first clinical laboratories were opened: Johan Franz Simon carried out chemical analyses for the clinician Schonlein in Berlin, Johan Joseph Scherer (1814-1869) established in 1842 at Wurzburg a laboratory devoted to «clinical chemistry» analyses, Johann Florian Heller (1813-1871) founded in 1844 a laboratory of «pathological chemistry» in Wien, Giovanni Bizio became in 1863 the chief chemist at the laboratory of the General Hospital of Venice.

Several articles document the usefulness of chemical investigations (for example: the measurement of urea, creatinine, albumine in blood and urine, relative density, freezing point) in the management of patients suffering from kidney diseases cured in the General Hospital of Venice in the second half of XIX century.

All the major methods used in XIX century for the diagnosis of kidney diseases are described in the article. Among the methods for the urea, the Millon-Boymond method (1849), the Bunsen method (1850), the Liebig method (1853), the Knop-Hufner method (1877) and the Folin method (1901) are described. Also the most popular methods for urinary albumine measurement are described: the biuret reaction (1833), the Heller reaction (1852), the Heynsius reaction (1875), the Esbach method (1874 and 1882), the urinary test papers (1883). Finally the methods for creatinine assay are described: the Jaffe method (1884), the Folin method (1904) and two methods proposed by italian authors: Bruttini and Giannetti.

(*) Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia Ospedale «S. Bortolo», Vicenza.

(**) Laboratorio Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche, OCM, Azienda Ospedaliera, Verona.

(***) Relazione presentata al VII Convegno Nazionale di «Storia e Fondamenti della Chimica» (L'Aquila, 8-11 ottobre 1997).

Introduzione

Nell'Ottocento la diagnostica clinica vede, inizialmente, il contrapporsi di due scuole: la francese che privilegia i metodi fisici di indagine, come l'auscultazione e la percussione, e la scuola tedesca che, sotto l'influsso del clinico di Wurzburg Johann Lucas Schoenlein (1793-1864), introduce fra i criteri diagnostici anche le ricerche chimiche e microscopiche sui liquidi biologici.

Successivamente, anche in Francia, sotto l'impulso delle idee innovatrici di Claude Bernard (1813-1878) divulgate con la pubblicazione dell'«Introduction à l'étude de la Médicine Expérimentale» (1865), si diffonde l'interesse per la chimica fisiologica e le sue applicazioni alla medicina pratica.

Per lo studio del decorso della malattia, le osservazioni cliniche non sono sufficienti e l'esame autoptico indicherà solo lo stato finale del processo patologico. L'obiettivo è lo studio di un processo morboso, di un irregolare funzionamento dell'organismo, per mezzo di nuovi metodi scientifici fisici e chimici [1].

L'uso di metodi chimici nella diagnosi clinica ha il suo esordio agli inizi del secolo in seguito alla introduzione di un «segno chimico» nella definizione di una malattia adottato per la prima volta da Richard Bright (1789-1858) nel 1827. Egli descrisse l'albuminuria come segno chiave del morbo che prese poi il suo nome [2]. Gli studi di Bright mettono in stretta relazione «l'osservazione clinica, la dissezione anatomica e la "dissezione chimica" nello studio della malattia» [3].

I progressi della fisiologia e della chimica portano, nel corso del secolo, ad individuare una serie di reazioni chimiche per la diagnosi delle malattie più note e soprattutto di quelle difficilmente diagnosticabili con il solo esame obiettivo. Il conseguente aumento della richiesta di indagini di laboratorio da parte dei clinici stimola i ricercatori alla costruzione di apparecchi per rendere i processi analitici più rapidi ed affidabili. Intorno alla metà dell'Ottocento sorgono anche i primi laboratori di chimica clinica, istituiti all'interno dei grandi ospedali per l'esecuzione di analisi chimiche a scopo diagnostico. I laboratori di chimica clinica si sviluppano di pari passo con l'evolversi delle tecniche chimico analitiche e della strumentazione.

I primi laboratori di chimica clinica in Europa

Le date principali sono comprese tra il 1840 ed il 1863.

1840. Presso l'Ospedale di Berlino il chimico-farmacista Johan Franz Simon (1807-1843) esegue analisi chimiche su materiale biologico per conto dell'illustre clinico Johan Lucas Schonlein.

1842. Al Juliusspital di Wurzburg viene allestito il primo laboratorio destinato alle analisi «chimico cliniche». È diretto da Johan Joseph Scherer (1814-1869), allievo di Liebig.

1844. Il chimico Johan Florian Heller (1813-1871), allievo di Liebig, istituisce a Vienna un laboratorio di «chimica patologica».

1863. All'Ospedale Generale di Venezia funziona un laboratorio, diretto dal chimico Giovanni Bizio (1823-1891), per eseguire *«le indagini chimiche organiche richieste dai medici primari»*.

Le indagini chimiche nella malattia renale

La presenza di albumina nelle urine di pazienti nefropatici era stata osservata già nel 1764 da Domenico Cotugno (1736-1822) che nella sua *«De Ischiade Nervosa Commentarius»* descrive la presenza di *«albam massam tenerrimo iam coacto ovi albumine persimilem»* (denso corpo bianco come albume di uova sode) nelle urine riscaldate di un soldato di 28 anni con anasarca, febbre intermittente, pochissima sete e poche urine [4]. Secondo Rayer (1839) è uno dei primi trionfi della chimica applicata alla patologia.

Richard Bright, nella sua opera «Reports of Medical Deseases» (1827), lega a lesioni anatomiche del rene un segno clinico (edema) ed una anomalia riscontrata nelle urine (urine coagulabili). Nel 1842 al Guy's Hospital istituisce una unità collegata ad un laboratorio specializzato nello studio delle malattie renali.

«... non vi ha adunque albuminuria, sia acuta e sia cronica, sia mortale che lieve, la quale non abbia per causa prossima un'alterazione anatomica dei reni» (Gaetano Primavera. *Manuale di Chimica Clinica*, 1873).

La scoperta e gli studi sull'urea da parte di numerosi chimici e medici: Fourcroy, Vaquelin, Prevost, Dumas, Wohler, Bechamp portano ad individuare questo componente dell'urina e del sangue come un indice attendibile di malattia renale. Interessanti studi in questo senso si debbono al medico e chimico inglese John Bostock (1773-1846) che viene considerato uno dei primi patologi chimici. Molto preparato in chimica, sua scienza prediletta, Bostock nel 1827 attraverso indagini chimiche contribuisce ai progressi della biochimica delle malattie renali rilevando per primo la relazione fra la diminuzione dell'albumina nel sangue e il suo corrispondente aumento nell'urina. Nota una diminuzione dell'urea nell'urina ed un aumento nel sangue [5].

Per l'urea, come per altri analiti, vengono individuati dei «valori normali» corrispondenti ai risultati analitici ottenuti da soggetti sani che, confrontati con quelli di soggetti affetti da particolari patologie, aiutano ad arrivare a conclusioni diagnostiche soprattutto nei casi dubbi.

«... diceva di soffrire da due mesi di gonfiezze vaganti. Allora non se ne vedevano ma dalla storia fui indotto ad esaminare le urine che ho mandate al prof. Bizio. Ecco i risultati della sua analisi: (Fig. 1)
... gli spedii pure una piccola quantità di sangue ... e in grammi 115,30 il prof. Bizio separò 0,908 d'urea. L'urea ... egli scrisse, si trovava in proporzione di 0,787 per cento, mentre a media normale, secondo il Picard, sarebbe di 0,016 per cento

in parti 100.			media normale.	
Albumina. .	0.134	. . . .	0.000	
Cloro. . .	1.193	materie fisse	2.330	materie fisse
Sali . . .	0.521	1.955.	1.540	4.160
Altre m. fisse.	0.107	. . . .	0.290	
Acqua . .	98.045	. . . .	96.000	
	100.000		100.000	

Fig. 1. Risultati delle analisi eseguite da Bizio sulle urine di un paziente [1].

... Nella dissezione del cadavere ho trovato ... atrofici i reni con degenerazione lardacea ...» (Giornale Veneto di Scienze Mediche, 1868).

«In un infermo di albuminuria, portato in ospedale nell'ultima settimana della sua vita, la diagnosi non avrebbe potuto farsi senza l'esame chimico delle urine, tanto erano incerte le parvenze sintomatiche» (Giornale Veneto di Scienze Mediche, 1865).

La diagnostica chimica della malattia renale nell'Ottocento avviene prevalentemente attraverso indagini sulle urine, il liquido biologico reperibile facilmente, in grande quantità e maggiormente studiato. Le analisi sul sangue sono più rare perché richiedono metodi indaginosi ma soprattutto, e questo è il vero grosso ostacolo, necessitano di grandi quantità di campione (circa 100 mL).

Solo all'inizio del Novecento con i micrometodi proposti da Ivar Bang (1869-1918) e Fritz Pregl (1869-1930) ed i metodi colorimetrici studiati da Otto Folin (1867-1934) e dalla sua scuola sarà possibile il diffondersi delle determinazioni su questo complesso liquido biologico. Anche per le indagini colorimetriche sull'urina, a causa dell'effetto della matrice biologica, saranno determinanti gli studi di Folin all'inizio del Novecento.

Rilevare un determinato analita nell'urina o nel sangue oppure la valutazione delle variazioni di concentrazione costituisce spesso un «segno chimico» sufficientemente specifico per la diagnosi di malattia renale (albumina, urea, creatinina, ...), altre indagini chimico fisiche (densità dell'urina, crioscopia, ...) non hanno da sole un grande significato ma sono invece utili per delineare un quadro più completo in quella che Ludwig Thudichum (1829-1901) definisce «l'identificazione chimica della malattia» [1]. I pareri, comunque, sono spesso discordi:

«La crioscopia è molto utile nei casi di nefriti croniche, perché molti sintomi ancora oscuri vengono rilevati per mezzo di essa. È molto difficile però dire se si tratti di impermeabilità glomerulare o d'insufficienza cardiaca ... In questi casi è la chimica che deve illuminare la crioscopia e non questa quella» [6].

«L'abbassamento del punto di congelamento dell'orina sta in rapporto col grado di lesione del rene» [7].

«La eliminazione quotidiana normale della creatinina è di gr. 0,60-1,30 ... diminuisce nella nefrite» [8].

Le indagini chimico-fisiche sulle urine e su sangue messe a punto nell'Ottocento e nei primi anni del Novecento utili per la diagnosi di malattie renali possono essere individuate in:

— Misura della densità (urina);
— Rilievo del punto crioscopico (urina);
— Determinazione qualitativa e quantitativa dell'albumina (urina);
— Determinazione quantitativa dell'urea (urina/sangue);
— Determinazione qualitativa e quantitativa della creatinina (urina/sangue);
— Ricerca dell'emoglobina (urina);
— Misura dei cloruri (urina).

REAZIONI E APPARECCHI

Crioscopia

Metodo di misura: abbassamento crioscopico

Apparecchio di Beckmann modificato da Bousquet (Fig. 2) [8].

Il recipiente esterno più grande (a) e il tubo *b* contengono rispettivamente una miscela refrigerante (ghiaccio e cloruro di sodio) e un mezzo di trasmissione termica (acqua e glicerina in parti eguali). Il liquido in esame viene introdotto nel tubo più interno (c), con un termometro ed un agitatore di platino, dove comincia a congelare. La temperatura scende rapidamente e quindi, per aggiunta di un cristallino di ghiaccio, inizia a risalire fino ad un punto al quale rimane costante per alcuni secondi. Il valore rilevato a quel momento è la temperatura di congelamento del liquido.

Metodi di dosaggio dell'urea

Metodo di Millon-Boymond (1849)

Facendo reagire una soluzione di urea con acido nitroso e nitrico (reattivo di Millon: soluzione acquosa di mercurio e acido nitrico) l'urea viene decomposta in azoto e anidride carbonica che si sviluppano [9].

$$CO(NH_2)_2 + HNO_2 + HNO_3 = \mathbf{CO_2} + N_2 + NH_4NO_3 + H_2O$$

Millon (1849) determina solamente la CO_2 per pesata, assorbendola su un tubo a potassa a peso noto, e da questa risale all'urea nel campione in esame.

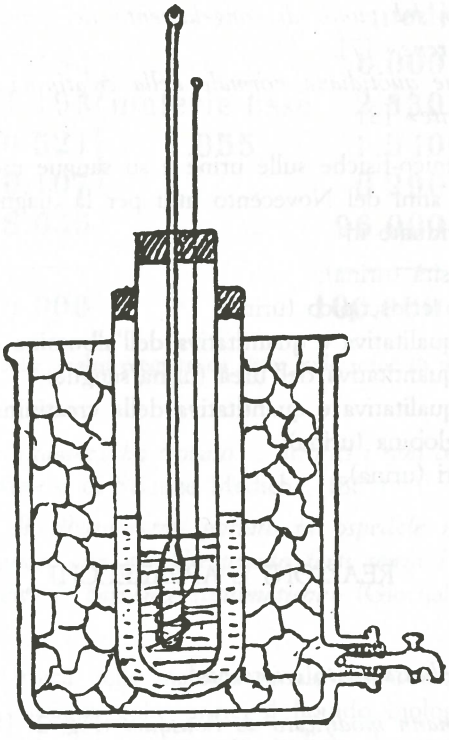

Fig. 2. Apparecchio di Beckmann modificato da Bousquet [8].

Boymond (1873) fa avvenire la reazione in un apparecchio a diminuzione di peso e dalla sua variazione si risale alla quantità di CO_2 e N_2 sviluppati e quindi alla quantità di urea nel campione.

«È un buon metodo. Per uso clinico questo metodo e quello di Hufner sono i migliori» [9].

Nel 1897 il metodo di Millon-Boymond viene modificato da Riegler che misura il volume dei gas azoto e anidride carbonica con l'apparecchio riportato in figura 3. L'urina da esaminare si trova nel tubo **A** in comunicazione con un imbuto **B** contenente il reattivo di Millon e con una buretta graduata **C** contenente una soluzione di acqua e glicerina. L'urina viene portata a temperatura ambiente ponendo **A** nel bagno **R** per qualche minuto, quindi si aggiunge da **B** un volume determinato di reattivo, si agita e si scalda. Si raffredda il tutto nel bagno **R** e quindi, nella buretta graduata preventivamente azzerata, si legge il volume di gas raccolto. Si risale alla concentrazione di urea nel campione attraverso calcolo o per mezzo di una tabella predisposta che dà la quantità di urea in 1000 parti di urina per ogni centimetro cubo di gas misurato.

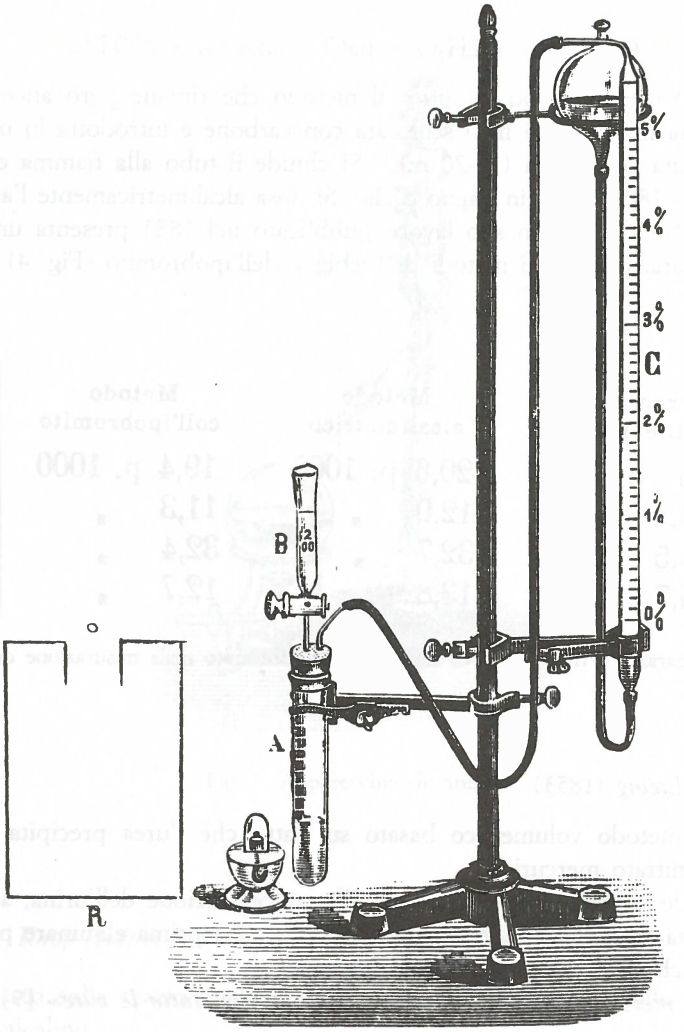

Fig. 3. Apparecchio di Riegler.

Metodo di Bunsen (1850)

Per riscaldamento dell'urea a temperatura elevata si forma carbonato di ammonio che in presenza di cloruro di bario si trasforma in carbonato di bario. Dal peso di quest'ultimo si risale alla quantità di urea nel campione di urina in esame [9].

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O + BaCl_2 = BaCO_3 + 2NH_4Cl$$

Nel 1883 Hugounenq modifica il metodo che rimane però ancora indaginoso. L'urina in esame (5 mL) scolorata con carbone è introdotta in un tubo di vetro e diluita con acqua (15-20 mL). Si chiude il tubo alla fiamma e si scalda per un'ora a 180-190 °C in bagno d'olio. Si dosa alcalimetricamente l'ammoniaca prodottasi. L'autore in un suo lavoro pubblicato nel 1883 presenta una interessante comparazione con i metodi di Liebig e dell'ipobromito (Fig. 4) [9].

Processo Liebig	Metodo alcalimetrico	Metodo coll'ipobromito
25 p. 1000	20,6 p. 1000	19,4 p. 1000
16,4 „	12,0 „	11,3 „
34,5 „	32,7 „	32,4 „
16,7 „	13,8 „	12,7 „

Fig. 4. Comparazione tra metodo di Liebig e dell'ipobromito nella misurazione dell'urea [9].

Metodo di Liebig (1853)

È un metodo volumetrico basato sul fatto che l'urea precipita completamente col nitrato mercurico.

Richiede molte correzioni relative alla concentrazione dell'urina, all'acidità e alla presenza di solfati ed altre sostanze che bisogna prima eliminare poiché precipitano anch'esse con il nitrato mercurico.

«È un metodo buono se si mette in pratica con tutte le cure» [9].

Metodo di Folin (1901)

L'urea quando viene riscaldata con cloruro di magnesio e acido cloridrico si decompone sviluppando ammoniaca. In simili condizioni altre sostanze azotate presenti nell'urina (creatinina, acido ippurico) non subiscono decomposizione. L'ammoniaca che si forma viene determinata con il metodo di Kjeldahl.

Assai pratico in questa determinazione è l'apparecchio di Aubin (Fig. 5). La reazione avviene nel pallone grande collegato ad uno speciale distillatore con refrigerante a ricadere. L'ammoniaca distillata si fa condensare in un volume noto di acido solforico N/10 (palloncino) il cui eccesso viene poi titolato con idrato sodico N/10 [7, 10].

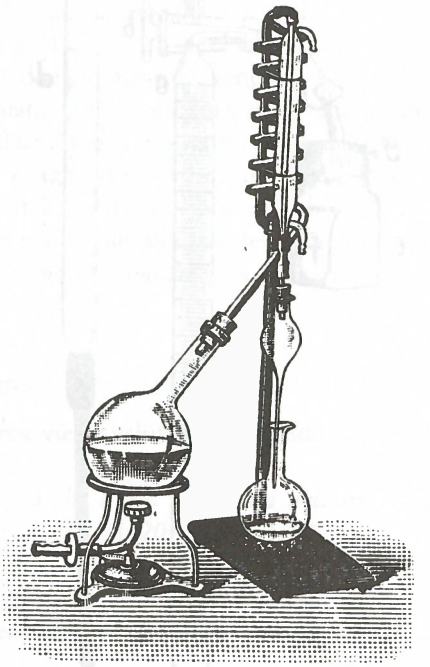

Fig. 5. Apparecchio di Aubin.

Metodo di Knop-Hufner (1877)

È basato sulla reazione che ha luogo fra l'urea e l'ipobromito di sodio in ambiente alcalino:

$$CO(NH_2)_2 + 3NaBrO = CO_2 + N_2 + 3NaBr + 2H_2O$$

L'anidride carbonica non si sviluppa, trattenuta dall'eccesso di soda contenuta nel reattivo. Misurando il volume del solo azoto prodotto si risale alla quantità di urea nell'urina in esame.

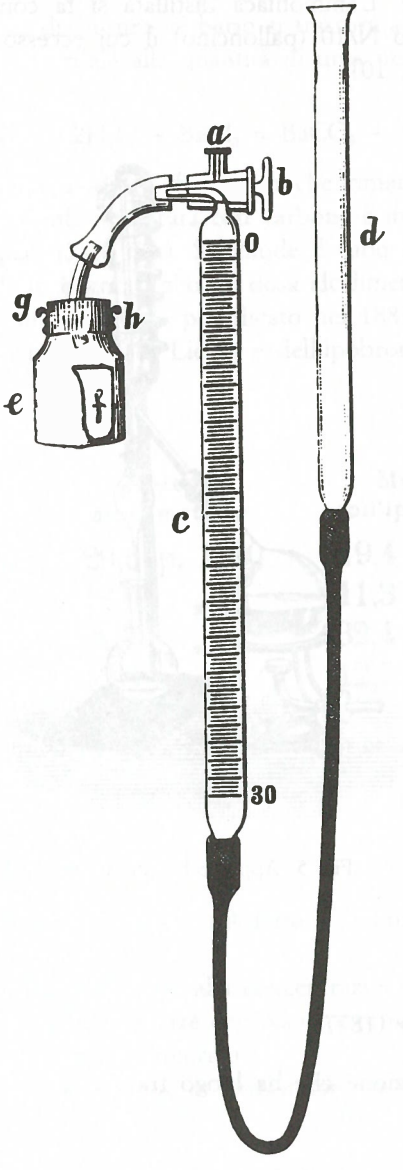

Fig. 6. Ureometro di Lunge.

«Vi sono altre sostanze nell'urina, che possono sviluppare dell'azoto coll'ipobromito sodico, quali la creatina, la creatinina e l'acido urico, ma è lieve l'influenza di queste sostanze; prima, perché sono in piccolissima quantità, poi perché la reazione tra l'ipobromito e l'urea avviene rapidamente mentre coll'ipobromito e le altre sostanze ha luogo lentamente» [9].

La reazione è stata usata in decine di tipi di strumenti, noti con il nome di ureometri, le cui ultime versioni sono state costruite intorno al 1950. Descriveremo l'ureometro di Lunge in uso alla fine del secolo scorso [9]. L'urina viene posta nel contenitore **e** (Fig. 6) ed il reattivo (ipobromito di sodio) nella provetta **f** in modo che i due liquidi non vengano a contatto. Il vaso **e** è collegato ad una buretta graduata contenente mercurio che prima della reazione viene portato al livello 0 alzando o abbassando il contenitore **d** anch'esso contenete mercurio. Si inclina e si agita il vaso **e** in modo che il reattivo e l'urina si mescolino. L'azoto prodotto dalla reazione viene raccolto e misurato nella provetta graduata e dal suo volume si risale all'urea del campione in esame.

«Questo metodo è molto comodo e noi crediamo sarebbe utile usarlo anche nelle cliniche» [9].

Metodo del peso specifico

La quantità di urea viene valutata misurando il peso specifico del campione di urina in esame.

«L'esperienza insegna che l'urea contenuta nell'orina ascende con 1014 di peso specifico a circa 1%, con 1014-1020 a circa 1,5%, con 1020-1024 a 2-2,5%, con 1028 a circa 3%» (Sahli, 1894) [11]. L'urina non deve contenere zucchero e albumina.

La densità può essere misurata rapidamente con gli urometri (Fig. 7).

Metodi di determinazione dell'albumina nelle urine

Metodi qualitativi

Reazione del biureto (1833): all'urina in esame, alcalinizzata con idrossido di potassio, si aggiungono alcune gocce di solfato di rame 10%. In presenza di albumina si ottiene una colorazione rosso violetto.

Reazione di Heller (1852): all'urina si aggiunge acido nitrico lentamente lungo le pareti della provetta. Alla superficie di contatto si forma un intorbidamento anulare bianco.

Reazione di Heynsius (1875): all'urina, acidificata con acido acetico concentrato, viene aggiunta una soluzione di cloruro di sodio e riscaldata fino all'ebollizione. In presenza anche di piccolissime quantità di albumina si osserva un precipitato fioccoso.

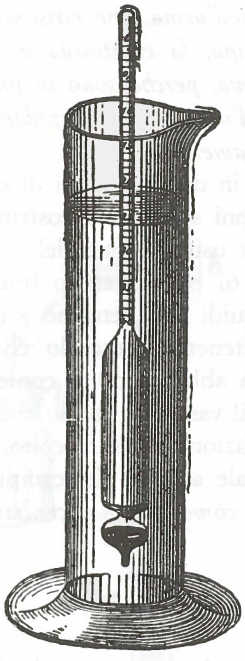

Fig. 7. Urometro.

Urinary test papers (Oliver 1883, Geissler, 1883): il kit è costituito da due tipi di carte da filtro: un tipo impregnato di una soluzione di acido citrico, l'altro di ioduro di mercurio e potassio. Le cartine vengono essiccate e conservate in apposite scatole (dry chemistry). Al momento dell'esame si immergono nell'urina le due cartine, in presenza di albumina si osserva un intorbidamento [12, 13]. Altre cartine, proposte successivamente, erano imbevute di acido citrico e ferrocianuro di potassio.

Metodi quantitativi

I metodi gravimetrici, lunghi ed indaginosi, vengono sostituiti nella seconda metà dell'Ottocento dai più comodi metodi volumetrici che richiedono semplicissime apparecchiature: gli albuminometri.

Il primo di questi albuminometri viene ideato da Georg Hubert Esbach (1843-1890) nel 1874 e modificato dallo stesso autore nel 1882. Negli anni successivi vengono costruiti altri albuminometri simili nella forma e che necessitano dello stesso reattivo studiato da Esbach (albuminometri di Aufrecht, Tsuchiya, Weiss ...) rimasti in uso nei laboratori e negli ambulatori del medico pratico fino alla metà del Novecento.

Descriviamo qui un albuminometro di Esbach al quale è aggiunta anche una seconda scala di misura per la determinazione dei cloruri (albumino-clorurimetro di Agasse-Lafont e Douris) [14]. È una particolare provetta sulla quale sono incise due scale, una per la misura dell'albumina (destra), l'altra per la determinazione dei cloruri (sinistra) (Fig. 8).

Determinazione dell'albumina: Introdurre l'urina da esaminare fino al segno **U** (scala di destra) e il reattivo di Esbach (acido picrico g. 1, acido citrico g. 2, acqua distillata q.b. a 100 mL) fino ad **R**. Mescolare più volte capovolgendo il tubo e quindi lasciarlo a riposo in posizione verticale per 24 ore. L'altezza del precipitato che si forma, letto nella scala inferiore, dà la quantità di albumina per litro di urina.

Determinazione dei cloruri: Versare l'urina in esame fino alla linea contrassegnata con **U** (scala di sinistra) e quindi il reattivo al bicromato (bicromato di potassio g. 2, acido acetico g. 3, acetato di sodio g. 10, acqua distillata q.b. a 1000 mL) fino al segno **R** (scala di sinistra). Mescolare capovolgendo il tubo ed aggiungere a poco a poco una soluzione di nitrato di argento (3%). Si produce un intorbidamento rosso che scompare mescolando; si interrompe l'aggiunta quando il colore è divenuto persistente. Il livello del liquido, rilevato dalla scala graduata, dà direttamente la quantità di cloruri per litro di urina analizzata.

Metodi di dosaggio della creatinina

Nel 1886 Max Jaffe (1841-1911) osserva che la creatinina reagisce con acido picrico in ambiente alcalino formando un composto di colore giallo arancio. *«La reazione è positiva anche per un contenuto di creatinina al cinquemillesimo (1:5000). La colorazione aumenta dopo alcuni minuti e rimane invariata per molte ore»* [11]. Questa reazione, utilizzata per la ricerca qualitativa della creatinina, viene ripresa nel 1904 da Otto Folin che ne fa un ottimo metodo colorimetrico quantitativo ancora oggi utilizzato. I metodi quantitativi in uso fino a quel momento sono poco affidabili, inaccurati, indaginosi e richiedono molto tempo ed una notevole quantità di urina. Folin utilizza solo 10 mL di urina, 15 mL di acido picrico (12 g/L), 5 ml di NaOH (10%) che mescola in un cilindro graduato e lascia a riposo per 5-6 minuti prima di effettuare la misura colorimetrica. Le sole sostanze che possono interferire sono l'etere acetacetico, l'acetone e l'acido solfidrico, raramente presenti nell'urina e comunque facilmente rimovibili con pochi minuti di riscaldamento con HCl. Un'altra importante osservazione emersa dagli studi di Folin è l'eguaglianza del colore sviluppato dalla reazione con soluzioni di bicromato di potassio in adatta concentrazione, soluzioni che potranno essere utilizzate come confronto [15]. Per le sue ricerche analitiche Folin utilizza il diffusissimo comparatore ottico realizzato da Jules Duboscq (1817-1886) nel 1854. Con questo

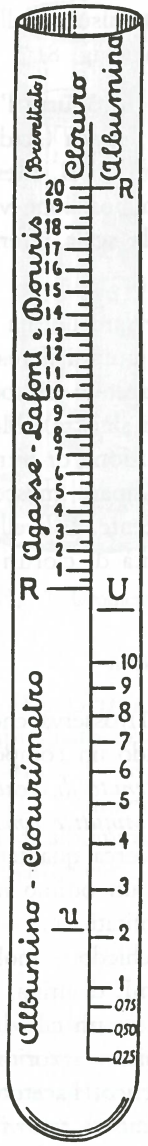

Fig. 8. Albumino-clorurimetro di Agasse-Lafont e Douris.

metodo rapido e ragionevolmente accurato Folin introduce l'uso del colorimetro nella ruotine del laboratorio di chimica clinica.

Con il diffondersi di questo tipo di strumentazione vengono ripresi e utilizzati i molti comparatori ottici costruiti nella seconda metà dell'Ottocento.

Interessanti, anche perché ideati da ricercatori italiani, sono i colorimetri di Arturo Bruttini [16] e di Giannetti [17]. Entrambi sono del tipo a «bilanciamento» basati cioè sulla comparazione del colore di una soluzione incognita con quello di una soluzione a titolo noto; lo spessore attraverso cui si guarda una soluzione rimane costante mentre lo spessore dell'altra può essere variato fino a raggiungere una eguale intensità di colore.

Nel colorimetro di Bruttini (Fig. 9) eguali quantità della soluzione a titolo noto e di quella incognita sono introdotte in due cilindri graduati di vetro

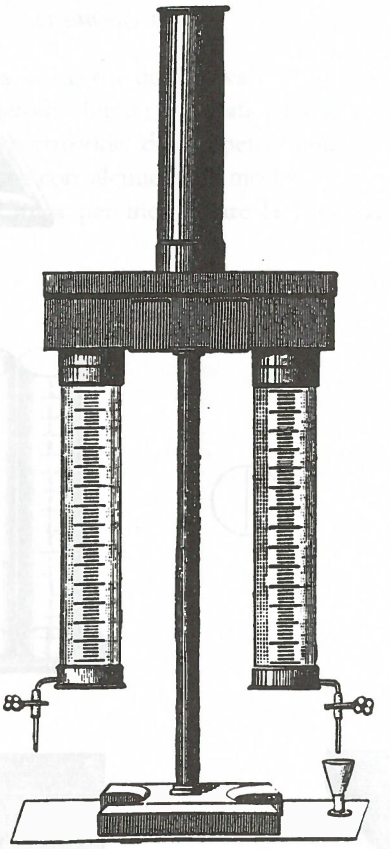

Fig. 9. Colorimetro di Bruttini.

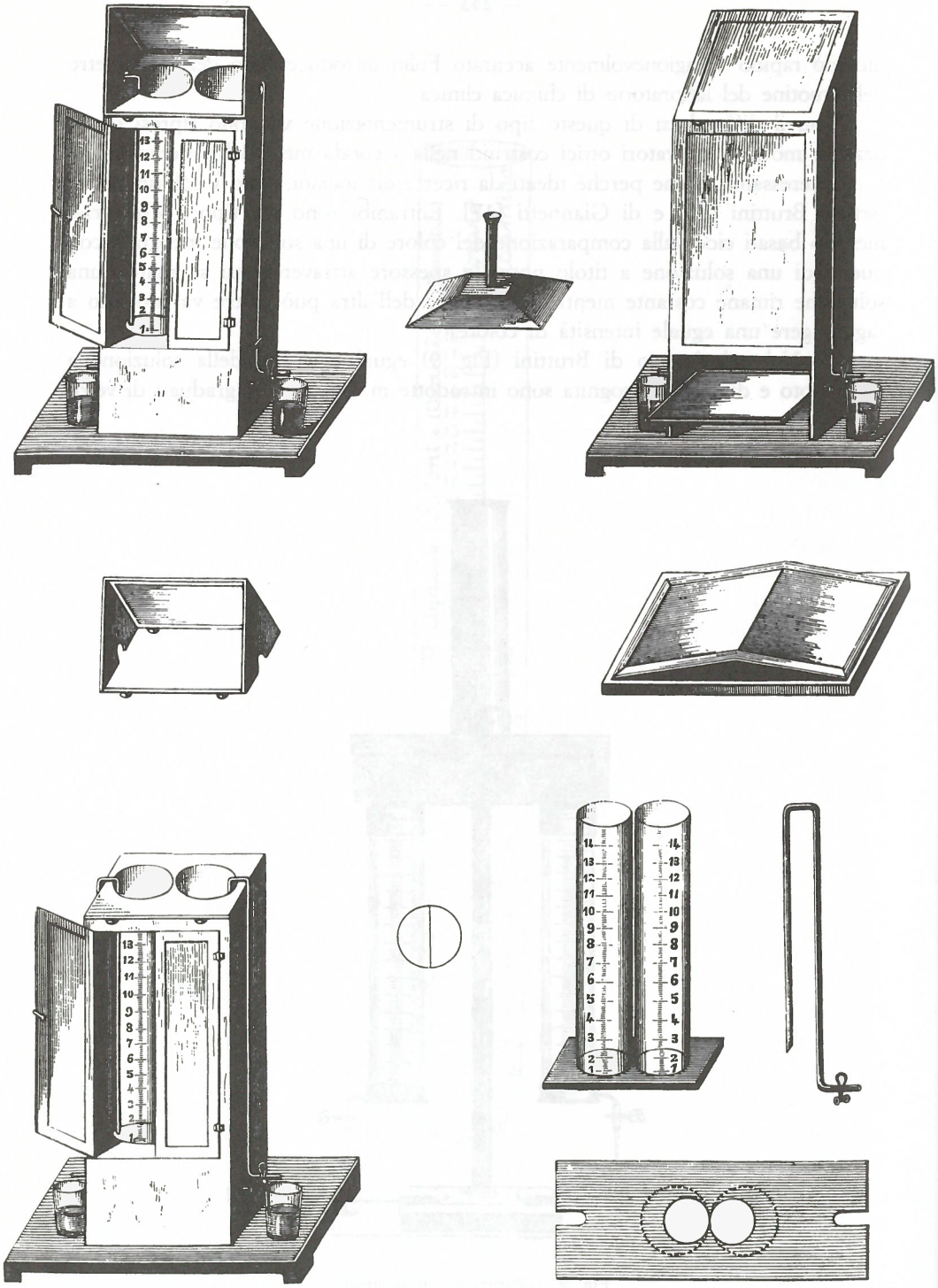

Fig. 10. Colorimetro di Giannetti.

di uguale diametro di base e recanti sul fondo un rubinetto. I due cilindri possono essere osservati contemporaneamente lungo i loro assi per mezzo di prismi posti all'interno della scatola metallica cui sono appesi. Se la soluzione incognita è di colore più intenso di quella di riferimento se ne farà uscire una quantità tale da osservare attraverso l'oculare la stessa intensità di colore. Dall'altezza dei liquidi incognito e di riferimento rilevate nei due cilindri graduati, si risale alla concentrazione della soluzione in esame.

Nel colorimetro di Giannetti l'altezza delle soluzioni viene regolata con dei sifoni ed il colore delle soluzioni nei cilindri è osservato su uno specchio inclinato posto alla loro sommità, oppure, più accuratamente, tramite un cannocchiale applicato alla sommità anteriore dello strumento che permette di osservare meglio le immagini sullo specchio. L'apparecchio in tutte le sue parti è rappresentato in figura 10.

Metodi per la ricerca dell'emoglobina

Per quanto riguarda la ricerca qualitativa dell'emoglobina nelle urine esistono nell'Ottocento alcuni metodi chimici qualitativi basati su reazioni colorimetriche. Dopo il 1860 con la costruzione dello spettroscopio da parte di Kirchhoff e Bunsen questo strumento, con alcune lievi modifiche, viene largamente usato nel laboratorio di chimica clinica per individuare la presenza di emoglobina.

BIBLIOGRAFIA

[1] BUTTNER J., *From chemistry of life to chemistry of disease: the rise of Clinical Biochemistry*, «Clin Biochem.», 13: 232-5, 1980.

[2] BUTTNER J., *The origin of clinical laboratories*, «Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.», 30: 585-593, 1992.

[3] PREMUDA L., *Introduzione storica*. In: Burlina A, ed., *Trattato Italiano di Medicina di Laboratorio*, Padova, Piccin, 1992.

[4] SCHENA F.P., *Domenico Cotugno and his interest in proteinuria*, «Am J. Nephrol.», 14: 325-9, 1994.

[5] CAMERON J.S., *John Bostock MD FRS (1773-1846): physician and chemist in the shadow of a genius*, «Am J. Nephrol.», 14: 365-70, 1994.

[6] CHAUCHI E., *Fisiologia e Patologia dell'urina*, Milano, Wassermann, 1933.

[7] ALESSANDRI P.E., *Urologia chimica e microscopica*, Milano, Hoepli, 1917.

[8] FERANNINI L., *Semejologia*, Terza ed., 1913.

[9] GUARESCHI I., *Commentario della Farmacopea Italiana e dei medicamenti in generale*, Torino, Unione Tipografico-Editrice, vol. III(II).

[10] SERONO C., *Manuale di analisi chimica. Clinica, fisio-patologica ed igienica*, Torino, Unione Tipografico-Editrice Torinese, 1932.

[11] SAHLI H., *Manuale dei metodi clinici d'esame*, Milano, Francesco Vallardi, 1913.

[12] GEISSLER E., MOELLER G., *Enciclopedia generale di Farmacia*, Milano, Francesco Vallardi, sd.

[13] VOSWINCKEL P., *A marvel of colors and ingredients. The story of urine test strips*, «Kidney International», 46: S3-7, 1994.

[14] AGASSE-LAFONT E., *Il laboratorio moderno del medico pratico*, Parigi, «Monde Médical», 1933.

[15] MEITES S., *Otto Folin. America's first clinical biochemist*, Washington, American Association for Clinical Chemistry, 1989.

[16] *Supplemento annuale alla Enciclopedia di Chimica*. Diretto da Guareschi I., Torino, Unione Tipografico-editrice, 1891.

[17] *Supplemento annuale alla Enciclopedia di Chimica*, Diretto da Guareschi I., Torino, Unione Tipografico-editrice, 1886.