Schegge di Storia della Medicina

La strumentazione analitica nell'ottocento: *"un nuovo ureometro clinico"*

G. Dall'Olio

Laboratorio di Chimica clinica, Ospedale "S. Bortolo", Vicenza

Riassunto

Nel 1897 viene presentato all'Accademia Medico Fisica Fiorentina un nuovo strumento per la misura dell'urea nell'urina progettato dal professor Giovanni Bufalini direttore del Laboratorio di Farmacologia Sperimentale di Firenze. L'apparecchio appartiene alla ormai folta schiera degli ureometri che misurano l'azoto formato dalla reazione dell'urea con ipobromito in ambiente alcalino (metodo gas-volumetrico). Le prove sperimentali per la valutazione dello strumento comprendono la comparazione con il già noto ureometro di Esbach, misure di precisione e lo studio della variabilità del risultato analitico con i tempi di reazione.

L'apparecchio di Bufalini è consigliato ai clinici per la sua esattezza, praticità ed assenza dei principali problemi degli ureometri allora in uso.

Summary

Analytical instrumentation in the XIXth century. A new apparatus for quantitative determination of urine urea

A new instrument for quantitative determination of urine urea, designed by Giovanni Bufalini director of experimental pharmacology laboratory in Florence, was presented in 1897. The apparatus, based on the gasometric hypobromite method, measured the nitrogen gas formed by the reaction of urea with alcaline hypobromite. It was evaluated by estimating the correlation to the Esbach apparatus, the results reproducibility as well as their variability connected with the reaction time.

Bufalini's method was regarded as very suitable for clinical needs and very useful to physicians for its good performances.

Gli studi sull'urea nell'Ottocento

L'urea, *"il materiale che caratterizza principalmente l'orina umana"* [1], è uno dei composti animali che più stimolano gli studiosi nell'Ottocento.

Gaetano Primavera (1832-1899) del laboratorio dell'Ospedale di Napoli nel suo manuale di chimica clinica (1869) lamenta poca conoscenza delle indicazioni patologiche dell'urea: *"L'urea, mentre è il principio più essenziale dell'urina, è stato il più disgraziato in clinica, imperocchè o non se ne è fatta che rarissimamente l'analisi, per l'estrema sua difficoltà, o si è analizzata spesso, ma malamente, d'onde poi è venuta una confusione tale nella patologia che la riguarda, che non se ne capisce più niente"* [2].

Altro problema che si pongono i chimici ed i fisiologi è la sede di formazione dell'urea nell'organismo umano ed in tal senso sono rivolti molti lavori dell'epoca. *"Nessun altro principio costituente l'orina è stato, come l'urea, così fecondo di studi e ricerche. La sua origine, il suo luogo e modo di formazione, la sua eliminazione, la sua maniera di comportarsi nello stato fisiologico, furono altrettanti punti e quesiti posti innanzi, e in parte vittoriosamente risoluti. (…) Se però in fisiologia molto si è discusso e molto studiato su questo principio, e siamo arrivati a delle conoscenze abbastanza esatte sul suo modo di comportarsi nelle diverse circostanze in cui si trova l'animale in stato di salute, non si è fatto altrettanto in patologia. Questo campo poco è stato percorso e meno esattamente studiato, da meritare che si ripari per l'avvenire a questa lacuna"* [1].

Per risolvere la questione Giorgio Roster (1843-1927) del laboratorio dell'Arcispedale di Santa Maria Nuova di Firenze, in un lavoro del 1879[3] utilizza un notevole numero di dati di laboratorio, raccolti fin dal 1870, per

Ricevuto: 10-12-2007 Pubblicato on-line: 14-12-2007

Corrispondenza a: Dott. Giuliano Dall'Olio, Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia, Ospedale "S. Bortolo", Viale F. Rodolfi n. 37, 36100 Vicenza. E-mail: giuliano.dallolio@ulssvicenza.it

accreditare la teoria della formazione dell'urea nel fegato. *"Oltre a giovare così alle osservazioni e ricerche della Patologia e della Clinica, potremo raccogliere notizie importanti e preziose relative allo stato fisiologico di alcuni principi costituenti l'organismo, non chè far commenti e trarre deduzioni sulla loro origine (…). In questo caso è l'alterazione patologica che può metter sulla via di una scoperta fisiologica (…). Ecco adunque come i nostri studi, oltre a rischiarare alcuni punti controversi di Patologia, possano utilmente servire alla Fisiologia"* [1]. Roster arriva alle sue conclusioni studiando le variazioni dell'urea in alcune patologie epatiche e deve quindi disporre di attendibili metodi quantitativi di analisi e di un intervallo di riferimento. Nel lavoro riporta infatti i valori dell'urea nelle urine delle 24 ore di soggetti sani, ricavati da lavori degli studiosi dell'epoca e dalle analisi chimiche che egli stesso ha effettuato. Nei pazienti con epatopatie riscontra non solo concentrazioni di urea tutte al di sotto dell'intervallo di riferimento, ma tanto più basse quanto più la funzionalità epatica è compromessa [4].

Le conseguenze importanti a livello pratico di tali e tanti e studi sono una maggiore conoscenza dell'urea come "segno chimico" per alcune patologie e lo sviluppo di nuovi e più affidabili metodi per la sua determinazione nell'urina e nel sangue.

I metodi chimico-analitici per la determinazione dell'urea

Nella seconda metà dell'Ottocento, sempre traendo notizie dall'affidabile e preciso Roster, si utilizzano ancora i metodi qualitativi *"per ricerche approssimative"* [1,2], resi semplici e rapidi da Gaetano Primavera [5], mentre l'analisi quantitativa viene effettuata con metodi gravimetrici, titrimetrici (Liebig, 1853) e gas-volumetrici (gasometrici con ipobromito, W. Knop, 1870; C. Hüfner, 1871).

Roster non nasconde la sua preferenza per le determinazioni gravimetriche poiché quelle volumetriche sono poco riproducibili anche se *"la celerità dell'operazione (...); il manuale operatorio se non facile non complicatissimo; agio di potersi mettere in pratica in qualunque luogo, senza il corredo di molteplici apparecchi ed anche al letto stesso del malato, dovean renderli carezzati da molti, ed alla portata dei più (...). Tuttavia (…) in un laboratorio, destinato esclusivamente agli studi ed alle ricerche della Chimica animale, le analisi quantitative debbono necessariamente eseguirsi alla bilancia"* [1]. Quindi: metodi gravimetrici per lavori di ricerca, metodi gas-volumetrici più pratici, semplici e veloci per la clinica, opinione condivisa da molti vedendo i trenta e più tipi diversi di strumenti per gas-volumetria realizzati dalla seconda metà dell'Ottocento ai primi decenni del Novecento [6].

Il principio del metodo gas-volumetrico poggia sulla reazione di E.W. Davy del 1854:

$$CO(NH_2)_2 + 3NaOBr + 2\ NaOH \rightarrow \underline{N_2} + 3NaBr + Na_2CO_3 + 3\ H_2O$$

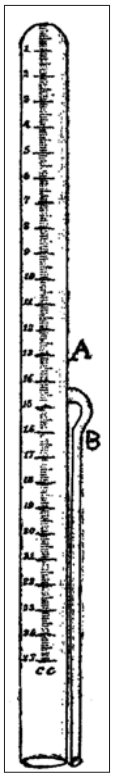


Figura 1. Ureometro di Bufalini [7].

In soluzione alcalina l'ipobromito decompone l'urea sviluppando azoto dal cui volume, misurato in apparecchi denominati ***"ureometri"***, si risale alla quantità di urea contenuta nel campione di urina in esame.

L'ureometro di Giovanni Bufalini

Nell'adunanza del febbraio 1897 dell'Accademia Medico Fisica Fiorentina viene presentato un nuovo ureometro progettato qualche anno prima dal professor Giovanni Bufalini direttore del Laboratorio di Materia Medica e Farmacologia Sperimentale dell'Arcispedale S. Maria Nuova di Firenze. La realizzazione del progetto, le prove sperimentali per la valutazione, le osservazioni e le conclusioni si devono ad un collaboratore del Bufalini che pubblica i risultati sugli *Annali di Chimica e di Farmacologia* [7].

L'ureometro (Fig. 1) consiste in una campanella di vetro con pareti spesse (A) lunga 32 centimetri e con un diametro interno di 1 centimetro graduata in decimi di centimetro cubo (cc) da 1 a 25 cc. Fra la graduazione 14-15 cc si innesta all'esterno un tubicino (B), comunicante con l'interno della campanella, che termina con la sua apertura esattamente all'estremità aperta della campanella stessa.

Le operazioni di misura si svolgono come segue: tenendo la campanella con l'apertura verso l'alto si introduce mercurio fino alla divisione 17, per cui esso penetra anche nel tubicino esterno; nel tubicino si versa 1 mL di urina e nella campanella 8 mL di ipobromito di sodio (dalla divisione 17 fino alla 25); si riempiono i

Soluzione Urea 1 %

Urea per 100

Esbach	Bufalini
0,909	0,990
0,960	0,989
0,920	0,990
0,948	0,984

Figura 2. Comparazione con l'ureometro di Esbach (soluzione di urea all'1%)[7].

L'urina di coniglio

Urea per 100

Esbach	Bufalini
0,537	0,704
0,370	0,485
0,534	0,658
0,650	0,730

Figura 3. Comparazione con l'ureometro di Esbach (urina di coniglio)[7].

due tubi con acqua distillata. Tenendo chiuse le due aperture con il pollice si capovolge l'ureometro, si immerge rapidamente in un bicchiere a calice contenente circa 2 litri di mercurio e si fissa con un supporto. L'ipobromito andrà a contatto con l'urina e reagirà con l'urea in essa contenuta sviluppando azoto gassoso. Si lascia che la reazione avvenga completamente (circa 6-8 ore).

Il volume di azoto prodotto, rilevato nella campana graduata, permette di quantificare l'urea contenuta nell'urina. L'autore usa la formula di Regnault che tiene conto della temperatura ambiente e della pressione atmosferica. Con l'apparecchio viene fornita una tabella che facilita il calcolo.

"Tutti gli inventori di strumenti di questo genere si sono preoccupati di evitare una delle cause di errore più salienti, vale a dire la possibile perdita di gas, ciò che hanno creduto di raggiungere con diversi artifizi, i quali per altro, o sono insufficienti allo scopo, o rendono l'ureometro uno strumento complicato ed eccessivamente difficile a maneggiarsi per i bisogni comuni della pratica clinica" [7].

A supporto delle sue affermazioni l'autore cita alcuni ureometri costruiti negli anni precedenti *"da cui risulta che chi ha voluto essere semplice è stato invece difettoso e chi si è circondato di molte cautele, più spesso ancora è stato poco pratico"* [7].

Così lo strumento costruito da Georges Esbach (1843-1890) non è di facile uso in quanto – a detta dell'autore – non è possibile tenere il tubo graduato chiuso per lungo tempo e se si opera rapidamente, come consiglia il suo ideatore, si incorre nell'inconveniente che l'urea reagisce solo in parte.

L'ureometro di Regnard, di uso relativamente semplice, non dà risultati soddisfacenti, mentre gli strumenti di Thierry, Gillet, Copranica ed altri ancora sono poco maneggevoli e le chiusure con rubinetti di vetro, a contatto con la soda, perdono la tenuta e sono causa delle temute perdite di gas. Anche gli ureometri costruiti in quegli anni dagli italiani Barbera (1894) e Gaspare Cavallero (1895) mostrano dei punti deboli, semplice e preciso il primo ma con i problemi derivanti dai rubinetti, complicato il secondo anche se caldeggiato dal Cavallero per la rapidità dell'analisi che *"non richiede più di tre minuti (…) notevole vantaggio sugli apparecchi comunemente usati coi quali per ogni dosaggio occorrono dieci minuti almeno di tempo"* [8].

"Da queste considerazioni risulta che, per i bisogni della clinica, gli ureometri più comunemente noti presentano tutti o l'inconveniente gravissimo di essere complicati e perciò non pratici, oppure, quando si tratti di apparecchi semplici, la brevità del tempo durante il quale si tengono in funzione non permette all'ipobromito sodico di svolgere tutta la sua azione" [7].

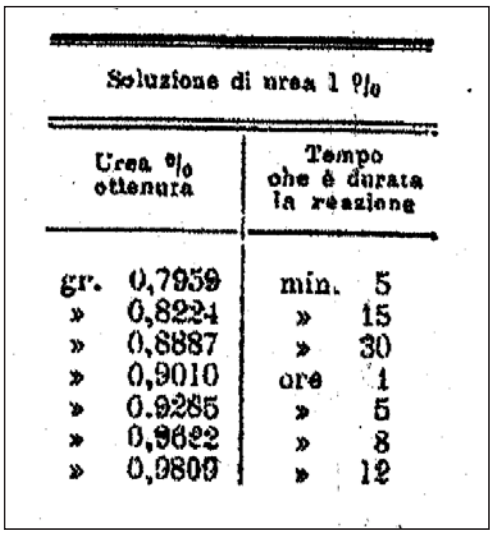
La valutazione dello strumento

Il reattivo per la determinazione dell' *"azoto ipobromitico"* è preparato mescolando 1000 mL di una soluzione di idrossido di sodio con 20 mL di Bromo.

Fin qui – sottolinea l'autore - il metodo proposto poco differisce da quello classico di Knop-Hüfner (1871) ma, a suo avviso, il dosaggio è reso più facile e più veloce senza perdere in esattezza[7].

Esegue le prove di comparazione del nuovo ureometro rispetto a quello di Esbach, esaminando una soluzione di urea all'1% (Fig. 2) e urina di coniglio (Fig. 3) dalle quali *"risulta evidente che col nuovo ureometro si ottengono dei valori assai superiori a quelli che si hanno, adoperando il medesimo reattivo, coll'ureometro di Esbach. Ciò dimostra che la percentuale di urea col nuovo ureometro è superiore a quella che si ottiene con quello di Esbach"* [7]. Queste differenze però - a giudizio dell'autore – sono da riferire principalmente al tempo di reazione e per provarne l'influenza sulla quantità di azoto che si sviluppa esegue una serie di esperienze con il nuovo ureometro, lasciando reagire una soluzione di urea all'1% per tempi variabili da 5 minuti a 12 ore. I risultati ottenuti sono riportati in Figura 4.

Con questo esperimento l'autore conferma le sue perplessità consigliando, per una completa scomposizione dell'urea, tempi di reazione superiori alle 12 ore



Soluzione di urea 1 %

Urea % ottenuta	Tempo che è durata la reazione
gr. 0,7959	min. 5
» 0,8224	» 15
» 0,8887	» 30
» 0,9010	ore 1
» 0.9285	» 5
» 0,9622	» 8
» 0,9809	» 12

Figura 4. Urea ottenuta con tempi di reazione crescenti (ureometro di Bufalini)[7].

"e ciò specialmente quando la temperatura dell'ambiente sia piuttosto bassa" [7].

Conclude ricordando che la particolare fattura dell'ureometro di Giovanni Bufalini esclude la possibilità di perdite di gas, poiché la chiusura è ottenuta con una colonna di mercurio sufficientemente alta che funziona come valvola *"ciò che differenzia notevolmente questo ureometro da tutti gli altri"* [7].

"Da tutto quanto è stato detto fin qui appare giustificato di raccomandare l'ureometro del prof. Bufalini, anche per la sua semplicità e per la sua esattezza, specialmente nel campo clinico in cui il bisogno di praticare delle esatte determinazioni di urea si incontra ogni giorno" [7].

La costruzione dell'apparecchio viene affidata ad Andrea Zambelli di Torino, fondatore nel 1879 dell'omonima ditta, *"e da lui messo a disposizione di chi desidererà sperimentarlo"* [7].

Bibliografia

1. Roster G. Sulle analisi eseguite in quest'ultimo triennio nel laboratorio di chimica patologica nella scuola di Firenze. Lo Sperimentale 1870; 25:370-9, 447-63, 568-76; 1870; 26:263-73, 384-93.
2. Primavera G. Manuale di Chimica Clinica. Napoli: Vitale; 1868.
3. Roster G. L'influenza del fegato nella produzione dell'urea dimostrata dalla chimica patologica. Lo Sperimentale 1879; 44:153-64, 225-61.
4. Dall'Olio G, Dall'Olio E. 1879: "L'influenza del fegato nella produzione dell'urea dimostrata dalla chimica patologica". Atti del X Convegno Nazionale di Storia e Fondamenti della Chimica. Pavia 22-25 ottobre 2003.
5. Primavera G. Trattato di chimica clinica delle urine. Napoli: P. Androsio; 1862.
6. Dall'Olio G, Dorizzi RM, Telesforo P. Apparecchi del laboratorio clinico. Dalle origini al 1950. Foggia: DI.TE; 1996.
7. Della Torre CE. Di un nuovo ureometro. Annali di Chimica e di Farmacologia 1897; 25:196-201.
8. Cavallero G. Manuale di Uroscopia Clinica. Torino: Unione Tipografico-Editrice Torinese; 1909.