

Schegge di Storia della Medicina

La siringa: dalla “medicazione ipodermica” al prelievo di sangue

G. Dall'Olio¹, R.M. Dorizzi²

¹Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia, Ospedale “S. Bortolo”, Vicenza

²Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, Azienda Ospedaliera di Verona

Riassunto: La prima notizia di uso della siringa risale al 1852 quando il medico ortopedico francese Charles Gabriel Pravaz (1791-1853) costruisce un dispositivo per iniettare nelle arterie di montoni e cavalli una soluzione di cloruro di ferro per studiare la coagulazione, tecnica che in seguito applica sull'uomo per la cura degli aneurismi. Contemporaneamente, il medico di Edimburgo Alexander Wood (1817-1884), riconosciuto come il fondatore della medicazione ipodermica, utilizza una siringa per curare le nevralgie iniettando medicinali in prossimità dei nervi malati. In Italia i primi ad utilizzare la siringa di Pravaz per iniezioni sono Bartolomeo Guala dell'ospedale di Brescia (1860) ed il chirurgo milanese Ambrogio Gherini (1861). Numerosi sono i tipi di siringhe costruiti nella seconda metà dell'Ottocento quando queste comincia-

Summary: *The syringe: from the hypodermic medication to the blood drawing.*

The first report of syringe use goes back to 1852 when orthopedical surgeon Charles Gabriel Pravaz (1791-1853) produced a device to inject an iron chloride solution in the arteries of rams and horses in order to investigate the coagulation process. He then applied the same technique in the cure of aneurysms. In the same years the Edinburgh physician Alexander Wood (1817-1884), acknowledged as the founder of hypodermic medication, used the syringe for curing neuralgia injecting drugs near the diseased nerves. Bartolomeo Guala in Brescia Hospital (1860) and the surgeon Ambrogio Gherini in Milano (1861) were the first users of the Pravaz syringe in Italy.

Several types of syringes have been produced in the

Le urine sono da molti secoli il fluido biologico ideale per essere oggetto di studio da parte del medico, del chimico e del farmacista in quanto facili da ottenere in grandi quantità. Solo la siringa ipodermica ha invece consentito di “prelevare” dal corpo, con relativa facilità, il sangue ed è interessante vedere come essa si sia sviluppata e diffusa come strumento per la medicazione ipodermica e solo in seguito sia-

no rapidamente a diffondersi anche per il prelievo di campioni di sangue: da quelle di metallo con ago d'oro e punta di acciaio (Leiter, 1864), a quelle di Danet (1867), di Luër (1886), fino a quelle di Malassez (1881) con il corpo interamente in vetro, facilmente sterilizzabili con acqua bollente, e quindi adatte alla raccolta di campioni per emocolture.

Numerosi sono gli inconvenienti correlati ad iniezioni praticate senza accorgimenti antisettici nonostante le precauzioni indicate da Lister fin dal 1867.

La storia recente della siringa, ormai largamente diffusa per i prelievi ematici in tutti i laboratori, è legata alla nascita e all'evoluzione di una azienda, la Becton Dickinson (New York, 1897), che sarà una delle maggiori ditte produttrici, per varietà e per numero, di siringhe nel mondo.

second half of XIX century and their diffusion further spread when they began to be used for blood drawing: Leiter all-metal syringe with gold needle and steel point (1864), Danet syringe (1867), Luër syringe (1886), Malassez syringe (1881) with all-glass barrel, easy to sterilize with boiling water that could be used for collecting blood for hemocultures. The antiseptics precautions advocated by Lister since 1867 were not followed for many years in injecting drugs and in blood drawing with several drawbacks. The recent history of syringe, today universally used for blood drawing in all the clinical laboratories, is linked to the birth and the growth of Becton Dickinson, founded in 1897 in New York, that became one of the largest producer of syringes in the world.

no state considerate applicazioni per il prelievo del campione di sangue.

Dal momento in cui William Harvey (1578-1657) descrisse la circolazione del sangue (*Exercitationes de circulatione sanguinis*, 1649) si è cominciato ad intuire la possibilità di introdurre sostanze medicamentose nell'apparato circolatorio. Il primo a fare esperimenti di iniezioni in animali usando un qual-

cosa di simile alla siringa è stato il famoso architetto e grande sperimentatore Sir Christopher Wren (1632-1723) nel 1657. Wren usò la parte iniziale di una sottile penna d'oca collegata ad un recipiente aperto riempito del farmaco; l'infusione nella vena avveniva sfruttando la forza di gravità e non la pressione. La cannula di penna venne in seguito sostituita da un tubicino di argento o di oro e il recipiente che sfruttava la pressione da una sacca ben chiusa che poteva essere schiacciata. Le prime infusioni avvenivano attraverso una incisione della vena con una lama affilata che consentiva l'inserimento del tubo. L'olandese Regnier de Graaf (1641-1673), medico, anatomista e fisiologo, che ha legato il suo nome alla prima descrizione della secrezione pancreatica e dei follicoli dell'ovaio, costruì un dispositivo simile alla moderna siringa e la impiegò per iniettare mercurio allo scopo di evidenziare il percorso dei vasi dei cadaveri per studi anatomici. Nel 1827 il medico tedesco A. Neuner costruì una siringa di vetro resistente alle sostanze da iniettare che consentiva anche di misurarne la quantità. Poteva quindi iniettare mercurio nel cristallino del cadavere e mostrare agli studenti come rimuovere la cataratta.

I primi impieghi della siringa sul vivente sono attribuiti a Francis Rynd (1803-1861)¹⁴, chirurgo all'ospedale di Dublino, che nel 1861 scrive: *"The subcutaneous introduction of fluids, for the relief of neuralgia, was first practised by me, in the Meath Hospital, in the month of May 1844. The cases were published in the Dublin Medical Press of march 12, 1845"*¹. Rynd introduce soluzioni di morfina nel tessuto sottocutaneo per la cura della sciatica con un rudimentale dispositivo a gravità simile a quello proposto da Wren. Ad ogni iniezione deve preparare la via alla cannula praticando sulla pelle un'incisione con una lancetta *"il che come ognuno vede è assai incomodo"*¹.

L'ostacolo all'iniezione ipodermica e intramuscolare è inizialmente la mancanza di un apparecchio capace di vincere la resistenza dei tessuti. La tecnologia dell'epoca non è ancora in grado di fornire aghi cavi, acuminati, sottili, resistenti e inossidabili. Assai diffusa è ancora la "medicazione endermica" che prevede il lavaggio di una porzione di pelle con un vescicante e *"sul derma così denudato si spalma la sostanza medicamentosa, la meccanica del processo è l'imbevimento e l'endosmosi"*¹. Esperimenti sull'assorbimento di farmaci somministrati attraverso la "pelle denudata", i clisteri e le iniezioni ipodermiche vengono effettuati nel 1867 da Gaetano Primavera (1832-1899), chimico clinico, assistente di Salvatore Tommasi (1813-1888) a Napoli. Egli valuta il grado di assorbimento dalla concentrazione di farmaco nelle urine del paziente rilevata con precise analisi chimiche. I risultati, che evidenziano i molteplici vantaggi delle iniezioni ipodermiche, pubblicati su "Il Morgagni" nel 1867, sono in linea

con quelli presentati dalla Società Medico-Chirurgica di Londra nello stesso anno: *"la rapidità, intensità e sicurezza dell'azione, il produrre un dato effetto con una dose minore delle altre amministrazioni, la certezza degli effetti, la facilità d'applicazione, l'assenza di certe azioni disagiati di altri farmaci"*²⁵.

Logico quindi che la sperimentazione su questo metodo di somministrazione dei farmaci e la ricerca degli strumenti più idonei alla loro introduzione sottocute siano molto attive.

Spetta ad Alexander Wood (1817-1884), medico di Edimburgo, da alcuni indicato come il fondatore della medicazione ipodermica, il merito di aver apportato a questa tecnica procedimenti rigorosi e scientifici. Fin dal 1853 si occupa della cura delle nevralgie iniettando un narcotico in prossimità dai nervi malati, sui *"punti dolorosi nelle nevralgie"*, come li aveva denominati il loro scopritore, lo studioso francese Valleix. Questi, con scarso successo, aveva tentato con l'agopuntura di portare i medicinali nei punti di maggior dolore nei *"luoghi in cui il nervo si fa superficiale, ed è quindi maggiormente suscettibile di cura locale"*¹.

Wood riferisce su nove casi di guarigione, ottenuti iniettando i farmaci con una siringa di Fergusson, nella sua memoria del 1855: *"New method of treating neuralgia by direct application of opiates to the painful points"*.

La siringa di Fergusson è essenzialmente un cilindro di vetro, entro cui scorre uno stantuffo, alla cui estremità viene avvitato un ago cavo di acciaio. Gli inconvenienti, che ne limitano la diffusione, sono: *"la sua rozza costruzione"*, l'ago eccessivamente grosso che penetra con difficoltà nei tessuti producendo *"grandi lacerazioni e quindi vivo dolore"* e la mancanza di una scala graduata sul cilindro per misurare il liquido iniettato¹.

La realizzazione, nel 1852, della prima vera siringa viene attribuita al medico francese Charles Gabriel Pravaz (1791-1853) che la utilizza prima all'"Ecole vétérinaire" di Lione per introdurre soluzioni di percloruro di ferro nella carotide di pecore e cavalli per studiare la coagulazione e poi per curare gli aneurismi nell'uomo iniettandovi alcune gocce del sale ferroso. Presenta i risultati all'Accademia delle Scienze di Parigi nel gennaio 1853 pochi mesi prima della sua morte (Figura 1)⁶.

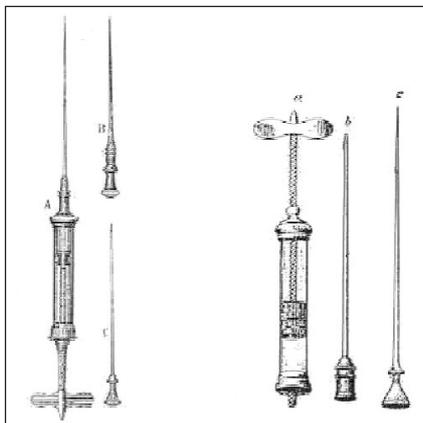
Pravaz nasce nel 1791 in un villaggio nei pressi di Chambéry (Savoie) dove il padre è "medico condotto". Studia dapprima matematica con scarsi risultati e, dopo il servizio militare prestato nell'esercito napoleonico, si dedica alla medicina laureandosi all'Università di Parigi nel 1824. Si specializza in ortopedia e fonda a Lione un istituto ortopedico che dirige fino alla morte (1853). Professionista apprezzato ed autore di alcuni validi lavori di ortopedia, deve il suo posto nella storia della medicina alla co-

Figura 1. Comunicazione di Pravaz all'Accademia delle Scienze di Parigi.



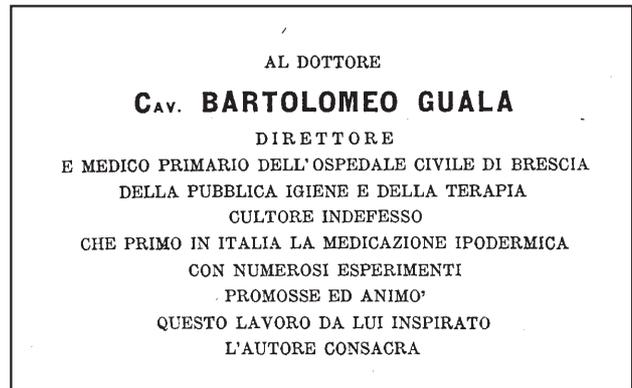
struzione della siringa che porterà il suo nome. La siringa di Pravaz consiste in un tubo di vetro lungo appena 4 centimetri, con una scala metallica esterna, al quale è avvitato l'ago cavo. Lo stantuffo, con guarnizione in cuoio, avanza nel cilindro per mezzo di una vite ed, ad ogni giro, espelle una goccia di liquido. Per le iniezioni ipodermiche si deve usare un "trequarti" di acciaio lungo 3 centimetri che viene introdotto sotto la pelle e poi ritirato lasciandovi la canula che si avvita al corpo della siringa (Figura 2). Malgrado alcuni inconvenienti, quali la difficoltà del-

Figura 2. La siringa di Pravaz.



iniezione, la poca forza con cui viene spinto il liquido ad ogni giro di vite e la sua piccola capacità (circa 35 gocce) che rende necessarie più ricariche nel corso di un trattamento (svitando lo stantuffo), essa trova subito largo impiego. Viene usata in Francia (1859) ed in Germania (1865) dai primi medici che praticano la medicazione ipodermica. In Italia i pionieri dell'uso della siringa di Pravaz sono Bartolomeo Guala (1860), primario all'ospedale di Brescia (Figura 3), e Ambrogio Gherini, chi-

Figura 3. Dedicà a Bartolomeo Guala primo ad usare in Italia la siringa di Pravaz (rif. 1).



urgo milanese, che nel 1861 inietta del curaro in un caso di tetano¹. Vincenzo Levi, in un lavoro sulle iniezioni con la siringa di Pravaz del 1868, scrive: "Un prezioso strumento che dovrebbe trovarsi fra le mani di tutti i medici e di tutti i chirurghi, di un uso facile e semplice, utile in un immenso numero di circostanze, è la sciringa (sic!) di Pravaz.

Circoscritta primieramente alla cura dei tumori sanguigni, venne poscia adoperata per trattare le nevralgie, quindi per le medicature sostitutive derivate e specifiche, cosicchè oggi, sotto umilissime forme, si è resa padrona di vasto campo"⁷.

Numerose e spesso raccapriccianti le complicazioni conseguenti alle iniezioni ipodermiche riportate nella letteratura scientifica dell'epoca, quasi sempre legate al fatto che "nessun atto preliminare è assolutamente necessario. Non occorre né lavare la pelle se sporca, né ungerla. Neppure occorre che l'ago venga unto"¹. Alla fine dell'operazione "la medicazione della ferita si fa più per prudenza che per altro. Vi si pone un pezzetto di cerotto o di taffetas"¹.

Ecco allora che "gli ascessi e le necrosi delle parti punte dalla siringa non sono niente affatto rare, anche quando la iniezione viene fatta da mani esperte (...), le iniezioni ipodermiche sono molto più pericolose di quello che non credevamo innanzi (...).

Il 2 settembre 1872, abbiamo assistito nel nostro ospedale clinico ad un fatto che ci ha letteralmente spaventato, la morte per tetano di un fanciulletto di sei anni, venuta in seguito ad una iniezione ipodermica di chinino e poco dopo che la parte punta erasi necrosata (...)"⁸.

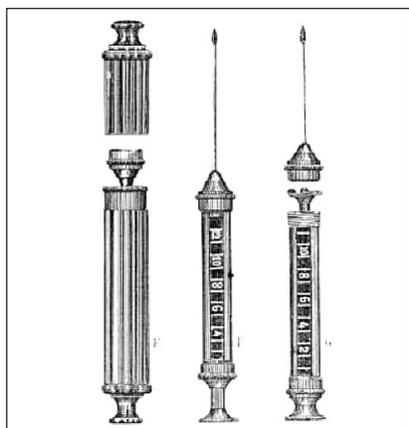
"Il dott. Roberts, chirurgo del 9° reggimento inglese di residenza nelle Indie curava da lungo tempo i malati di febbre intermittente colle iniezioni ipodermiche di chinino, ed aveva usato questo metodo più di 500 volte senza accidente degno di essere notato, quando il 22 ottobre 1875 uno dei pazienti fu preso da tetano e perì il 25 ottobre. Alcune ore dopo un secondo malato fu egualmente assalito da tetano ed il giorno dopo cessò di vivere (...) siffatto accidente fu costretto ad attribuirlo alla iniezione stessa"⁹.

“(...) la maggior parte delle volte l’infiammazione è limitata, però chi dato un ascesso, data una escara cancrenosa potrà stabilirne il limite, e la prognosi non grave? E il dolore credesi forse che non sia un fenomeno da tenersi in gran conto? Io ho veduti alcuni malati specialmente di sesso femminile che per non assoggettarsi al dolore che nella iniezione dura alla media da 4 a 8 ore non si sono voluti curare (...)”¹⁰.

I suggerimenti per limitare i danni da iniezione non mancano: “(...) si prende lo schizzetto di Pravaz, avendo cura che la punta sia asciutta, e che non vi sia aria entro di quello. Si fa una piega di pelle abbastanza grande e s’introduce l’ago parallelamente alla direzione delle fibre fino al tessuto sottocutaneo. Usando tali cautele non si è veduto giammai l’ascesso, tanto frequente dopo le iniezioni sottocutanee, ed il dolore del malato è molto minore che per gli altri metodi”¹¹.

“(...) in quanto al luogo da scegliersi per l’iniezione

Figura 4. La siringa di Leiter.



egli raccomanda le regioni laterali del torace e del dorso gl’ipocondri e le natiche, (...) un luogo ove la pelle sia sottile e scarseggi il pannicolo adiposo sottocutaneo (...) evitare le regioni sotto le quali trovansi le glandule linfatiche, e tutti i

luoghi ove fu fatta altra iniezione”¹⁰.

Anche la siringa è soggetta a modifiche per renderla facilmente trasportabile nella borsa del medico pratico e migliorare “l’operazione ipodermica”. Nel 1864 Leiter concepisce una siringa con ago in oro e punta in acciaio che può essere infilato nell’asta dello stantuffo per preservarlo durante il trasporto. Tutte le parti della siringa sono contenute in un “agoraio d’ottone, lungo 12 centimetri, che può stare nello scarsellino del gilet”¹¹ (Figura 4).

Mathieu propone una siringa, sempre con ago d’oro-acciaio, che ovvia “il difetto della poca capacità, da noi segnalato nella siringa di Pravaz (...)”¹¹, Danet (1867) una con “ago vuoto finissimo, in oro, terminante ad una estremità a becco di clarinetto e all’altra con una cupola di caoutchouc (caucciù, gomma elastica) per le ordinarie inoculazioni, ma principalmente per la vaccinazione”, l’altra più complicata per le “inoculazioni di liquidi titolati”¹¹.

Molto utilizzata la siringa costruita da Hermann Wolfen Luër con il corpo interamente in vetro ed il pi-

stone in amianto (1886). “Il manico dell’asta dello stantuffo è a scodella, così il dito indice, che deve spingerlo entro la siringa, vi si appoggia bene col suo polpastrello, e quello corre velocemente entro il tubo”¹¹. Gli aghi sono in oro a becco di clarinetto. “Eleganti cassetine, a forma di nécessaire da viaggio per donna, contenenti verticalmente siringa, tre aghi e un flacon a turacciolo smerigliato, in cui porre il liquido per le iniezioni, furono pure da lui costrutti”. Essa è per ora il miglior istrumento per la medicazione ipodermica. Non si dovrà per questo però bandire affatto dalla pratica quella di Pravaz (...).

Qualunque sia però la siringa che si vuol usare, si scelga preferibilmente l’ago d’oro e di prima qualità; esso è malleabile, senza essere fragile, si piega, ma non si rompe. (...) Gli aghi d’acciaio perdono facilmente la punta, la quale al minimo cozzo salta via. (...) La grossezza dell’ago deve variare fra due a tre millimetri, non di più (...)”¹¹.

L’introduzione negli Stati Uniti della siringa si deve al chirurgo americano Fordyce Barker che durante una visita ad Edimburgo nel 1856 era venuto a conoscenza degli esperimenti di Wood, mentre la prima ditta a commercializzare siringhe in America è la George Tiemann di New York che vanta già nel 1870 un catalogo con molte decine di siringhe diverse.

Per quanto concerne la raccolta di sangue per indagini chimico cliniche, i campioni si ottengono all’inizio per semplice puntura del dito. Il prelievo diventa un problema verso la fine dell’Ottocento quando l’aumentata gamma delle analisi rende necessari volumi di campione di 10-20 mL.

Si ricorre allora a salassi al braccio o all’uso del siero ottenuto con vescicanti applicati sulla pelle o più semplicemente dalla vena “per aspirazione diretta per mezzo della siringa di Pravatz (...)” (Vanni, 1887)¹².

“Allorquando occorrono, per l’esame, parecchi centimetri cubici di sangue si può servirsi di ventose scarificate. Ma in questo caso siccome il sangue spesso coagula troppo presto, onde alcune ricerche non si possono più praticare, è più consigliabile di prelevare il sangue mercè un ago-cannula introdotto in una vena del braccio. Ciò si può praticare mediante una siringa di Pravaz, con cannula non troppo sottile, o, quando si vogliono ottenere quantità addirittura molto grandi di sangue, mercè una cannula più massiccia, armata di un pezzo di un tubo di gomma, attraverso il quale il sangue defluisce di per sé dalla vena (...)” (Sahli, 1913)¹³.

La raccolta di campioni per emocolture complica il problema: le comuni siringhe di Pravaz con pistone in cuoio o altre con guarnizioni o parti in gomma non si prestano alla sterilizzazione con l’acqua bollente o con il calore secco. Straus rende possibile questa operazione nella siringa di Pravaz facendo sostituire il pistone in cuoio con uno di midollo di sambuco¹⁴. Successivamente Louis Malassez co-

struisce siringhe tutte in vetro facilmente sterilizzabili (1891) e quindi con minori rischi di infezione sia nelle iniezioni che nei prelievi di sangue.

Rimane comunque il fatto che nonostante Joseph Lister (1827-1912) avesse chiaramente raccomandato la disinfezione fin dal 1867, non era molto diffusa l'opinione che le siringhe potevano trasmettere malattie. Da Costa¹⁵ quando prelevava il sangue dal polpastrello o dal lobo dell'orecchio non sterilizzava l'ago ma lo puliva solo con un salvietta bagnata di alcol a meno che fosse stato utilizzato con pazienti affetti da sifilide o malattie settiche.

Solo più tardi la siringa diviene di uso corrente in medicina e viene utilizzata di routine anche per la raccolta dei campioni di sangue.

Ancora nel 1924 però sussistono difficoltà al prelievo con siringa: *“le manualità relative, sebbene semplici, implicano un piccolo atto di tecnica medico-chirurgica, che richiede armamentario opportuno, scrupolose misure asettiche e l'assistenza di un infermiere provetto (...). Il metodo, per quanto facile, presenta inconvenienti molteplici di varia importanza e di etiologia diversa”*¹⁶. Sono messi a punto numerosi dispositivi di grado diverso di ingegnosità. L'ago, per esempio, è collegato da un breve tubo di gomma a una provetta che raccoglie il sangue che fuoriesce dalla vena. Una volta che la provetta è riempita il tubo di gomma è chiuso con una pinza e viene, se necessario, collegato ad una seconda provetta. Altri dispositivi sono costituiti da bottiglie in cui sono introdotte alcune gocce di ossalato di potassio in cui viene raccolto il sangue necessario per l'esame¹⁷.

La storia recente della siringa è profondamente collegata e per certi versi si identifica con quella di una azienda, quella che fino a qualche tempo fa era nota come Becton e Dickinson. La ditta, fondata da Maxwell W. Becton (1868-1951) e Farleigh S. Dickinson (1868-1948), inizia la sua attività nel settembre 1897 al numero 45 di Vesey Street vicino al municipio di New York. Il primo prodotto ad essere commercializzato è la siringa Luër prodotta in Francia; l'aumento delle richieste e le difficoltà di approvvigionamento induce i due imprenditori ad acquistare i diritti di produzione nel 1899 ed a iniziare la lavorazione a Plainfield, NJ e dal 1906 ad East Rutherford, NJ.

La prima guerra mondiale porta ad una espansione del mercato ed alla completa affermazione delle siringhe di vetro, più facili da sterilizzare, che sostituiscono ogni altro tipo. Nel 1917 Farleigh Dickinson diviene presidente del Comitato di Coordinamento della produzione dell'equipaggiamento sanitario per l'esercito confermando il ruolo che l'azienda aveva acquisito. In meno di 20 anni una azienda che dipendeva completamente per la fornitura di aghi dall'estero arriva a disporre di un catalogo di 53 tipi di aghi in 230 varietà di dimensioni e lunghezza.

Figura 5. Pubblicità delle provette a vuoto per prelievi venosi (1947).



Nel 1924 la siringa Luër viene modificata per consentire di aspirare ed iniettare usando una sola mano e l'impiego di vetro speciale privo di alcali come il Pyrex la rende più resistente all'erosione causata dalla sterilizzazione e dai farmaci impiegati. Nel 1925 Dickinson brevetta il raccordo Yale Luër-Lok che consente la facile e sicura sostituzione dell'ago.

Gli anni 30-40 sono caratterizzati dalla messa a punto, produzione e commercializzazione della siringa Multifit a parti intercambiabili che consentiva di assemblare parti singole provenienti da siringhe diverse e successivamente dalla realizzazione del sistema a vuoto, brevettato nel febbraio 1949, studiato appositamente per prelievi venosi (Figura 5). Queste due fasi della evoluzione della siringa sono legate al nome di Joseph J. Kleiner (1897-1974) che prima con la sua azienda Goodman-Kleiner e poi nell'ambito della Becton-Dickinson and Company dagli anni 20 agli anni 70 continua a lavorare al miglioramento del prodotto e a portarlo a quello odierno.

La facilità di raccolta del campione di sangue conseguente all'uso della siringa ha certamente contribuito in maniera determinante all'evoluzione del laboratorio stimolando lo sviluppo delle tecniche analitiche e della strumentazione⁴. È davvero interessante e significativo rilevare come tanti personaggi, lungo tanti secoli, in tanti paesi abbiano contribuito a fornire al laboratorio uno strumento così fondamentale alla produzione di un risultato di laboratorio affidabile.

Bibliografia

1. Schivardi P. La medicazione ipodermica. Esposizione teorico-pratica. Milano, F.lli Rechiedei, 1871.
2. Charonnat R. Soluzioni iniettabili. Minerva Farmaceutica 1953; 2:170-4.
3. Pazzini A. Storia dell'Arte Sanitaria. Roma, Minerva Medica, 1974.
4. Olukoga AO, Bolodeoku J, Donaldson D. Laboratory instrumentation in clinical biochemistry: an historical prospective. Journal of the Royal Society of Medicine 1997;90:570-7.
5. Report of the scientific committee appointed to investigate the physiological and therapeutical effects of the hypodermic methode of injections. Medico

- Chirurgical Transactions of the R. Medico Chir. Society 1867:561-643.
6. Pravaz C. Sur un nouveau moyen d'opérer la coagulation du sang dans les artères, applicable à la guérison des anévrismes. Comptes Rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences 1853;36:88-90.
 7. Levi V. La siringa di Pravaz e le iniezioni ipodermiche. L'Ippocratico 1868; 14:26-33.
 8. Primavera G. Manuale di Chimica Clinica. Napoli. P. Androsio, 1873.
 9. Roberts A. Due casi di tetano consecutivi alla iniezione ipodermica del solfato di chinina. Lo Sperimentale 1876;38:343-4.
 10. Lauri C. Studi e ricerche sulla cura della sifilide costituzionale per mezzo delle iniezioni ipodermiche. Lo Sperimentale 1870; 25:27-39.
 11. Auspitz W. Modo di fare iniezioni ipodermiche senza avere accesso. Lo Sperimentale 1874;34:348.
 12. Vanni L. Presenza di microorganismi nel sangue di due ammalati di tetano. Lo Sperimentale 1887;59:617-8.
 13. Sahli H. Manuale dei metodi clinici d'esame. Milano, Francesco Vallardi, 1913.
 14. Contrepois A. Naissance de l'hémoculture. La revue du praticien 1995;45:942-7.
 15. Da Costa J C, Jr. Clinical Hematology. A practical Guide to the examination of the blood with reference to the diagnosis, 2nd Ed. Philadelphia: P.Blakiston's Son & Co.1905.
 16. Paoletti F. Un metodo semplice per ottenere il siero di sangue per ricerche biologiche. Studium. Rivista di scienza medica. 1924;14:25-7.
 17. Myers VC. Practical analysis of blood, 2nd Ed. St.Louis: CV Mosby. 1924.