



DotT. CARLO BRUNETTI

METODI DI RICERCA DELLE FIBRE ELASTICHE NELL'ESPETTORATO

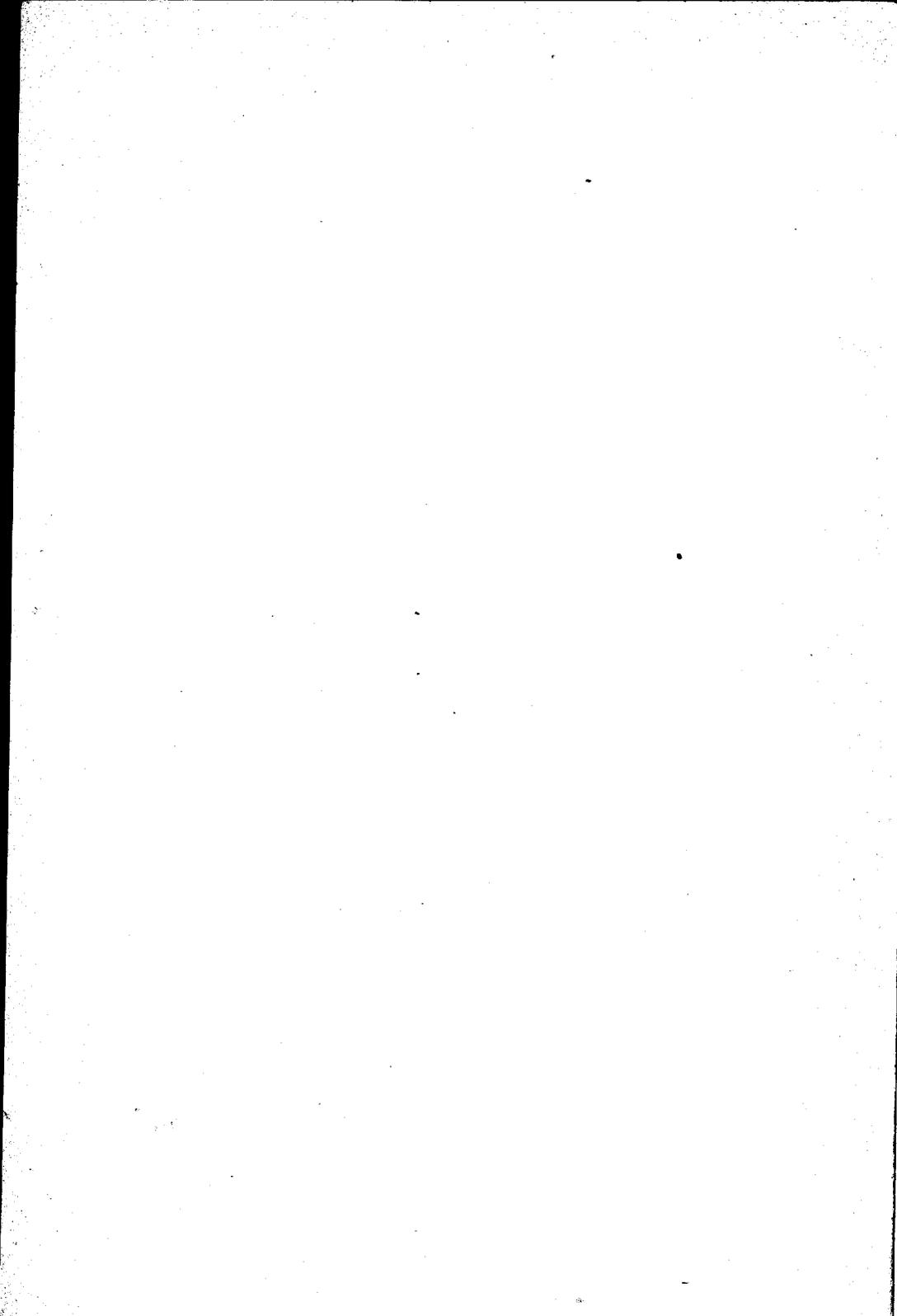


Estratto dal POLICLINICO, Vol. XXV-M, 1907.

7004
B
65
—
42

ROMA
AMMINISTRAZIONE DEL GIORNALE "IL POLICLINICO",
N. 219 — Corso Umberto I — N. 219

1907



*Al Sign. Prof. Alessio Nazzari
in omaggio*

Carlo Brunetti

DOTT. CARLO BRUNETTI

METODI DI RICERCA DELLE FIBRE ELASTICHE NELL'ESPETTORATO

Estratto dal POLICLINICO, Vol. XXV-M, 1907.



ROMA

AMMINISTRAZIONE DEL GIORNALE "IL POLICLINICO",
N. 219 — Corso Umberto I — N. 219

1907

Proprietà letteraria

Metodi di ricerca delle fibre elastiche nell'espettorato

per il dottor CARLO BRUNETTI.

Sebbene oggidi la ricerca delle fibre elastiche nello sputo non abbia più quell'importanza diagnostica che aveva molti anni indietro, prima cioè della scoperta del bacillo di Koch, pure, quando occorre conoscere il grado della lesione anatomica polmonare, astrazione fatta dalla natura, il reperto delle fibre elastiche è senza dubbio la prova più certa e manifesta del processo distruttivo del parenchima polmonare stesso.

Trovo opportuno qui subito ricordare che allorquando una polmonite lobare acuta non risolve favorevolmente, ma invece in qualche punto ha luogo necrosi, disfacimento od anche ascesso, le fibre elastiche sono il *primo* e possono continuare per un certo tempo ad essere l'*unico* indizio diagnostico di queste gravi complicazioni della malattia.

Comunemente le fibre elastiche si riscontrano nell'espettorato di gravi lesioni polmonari: tubercolosi nel periodo cavitario, bronchiectasie, ascessi del polmone, bronchiti putride, cangrena polmonare, infarto.

Jaksch già da molto tempo comunicò di aver trovato le fibre elastiche anche nella polmonite lobare, in rapporto, secondo l'autore, a piccoli focolai distruttivi del processo stesso; recentemente il Gatti e il Ronzoni hanno confermato tale reperto.

Invece nella cangrena polmonare detto reperto talvolta è negativo per la presenza di un fermento dimostrato dal Filhene, analogo alla tripsina, capace di dissolvere le fibre. Escherich e Devoto avrebbero rinvenuto questo fermento, però dotato di minor attività, nello sputo di individui tubercolosi.

Il Ronzoni le avrebbe altresì riscontrate nell'enfisema, in cardiopatici con ipostolia, nelle bronco polmoniti, nel diabete mellito, nel qual caso potè escludersi la natura tubercolare della lesione polmonare.

Prima di eseguire qualsiasi ricerca ho voluto controllare se il metodo del Fenwich, comunemente in uso, ci desse garanzia dei risultati che si ottengono: ho voluto cioè vedere il comportamento di pezzi di polmone posti in liquido alcalino con l'azione del calore.

Ricordo qui sommariamente i caratteri microscopici delle fibre elastiche in un preparato per sfibramento. Esse appaiono costituite da sostanza omogenea, incolore, splendente, di alto potere rifrangente della luce e limitate d'ambo i lati da un contorno oscuro, netto, regolare. Esse sono della grandezza di 1-3 μ ; hanno decorso onduloso, circonvoluto; presentano non di rado delle biforcazioni e si intrecciano e si intersecano in maniera abbastanza difficile a riconoscersi. Per la loro resistenza agli acidi e alcali sono differenziabili dalle fibre connettivali che hanno molti caratteri simili, possono però confondersi con i cristalli aciculari di acidi grassi, con fibre di lana, cotone e seta. Ma i cristalli di acidi grassi si sciogliono col calore trasformandosi in goccioline di grasso; le altre fibre, vegetali o animali, sebbene abbiano dei caratteri propri, pure non sono sempre nettamente differenziabili; solo con un poco di pratica facilmente si riconoscono. Talora, invece, fibre di residui alimentari rimasti tra i denti o nella bocca possono trarre in inganno, ma in tali casi esse sono più grossolane, non hanno aspetto tortuoso e serpeggiante, nè mai si vede la disposizione alveolare che è propria dei polmoni.

Esperienze proprie.

Come sopra ho detto, mi sono proposto di esaminare il comportamento del polmone sano od ammalato sottoposto al metodo di ricerca delle fibre elastiche nello sputo, adoperando la soluzione di potassa al 5 o 10 % e l'ebollizione o il termostato.

Ebollizione. - Di solito la ricerca delle fibre elastiche, come comunemente si esegue, consiste nel mescolare una certa quantità di espettorato (10-15 grammi) con egual quantità di liscivia di potassa al 10 per cento e facendo poi bollire sino a dissoluzione e schiarimento della miscela: ciò fatto si lascia sedimentare in un bicchiere a calice per 24 ore, poi si decanta il deposito, o si centrifuga; si prende infine un po' del fondo e si osserva al microscopio. Stabilito che per far avvenire la dissoluzione e il rischiaramento della miscela occorrono dai 10 ai 30 minuti, ecco come ho proceduto per gli esperimenti.

1° Ho asportato una porzione di apice o lobo polmonare di individuo morto con *apparato respiratorio sano*; dopo averlo tagliuzzato in pezzi più o meno regolari del volume inferiore ad 1 cme., li ho lavati ben bene nell'acqua per togliere quanto

più possibile il sangue ed il muco e poi li ho gettati in una capsula di porcellana con circa 10-20 cnc. di soluzione di potassa al 10 per cento.

Appena il tessuto polmonare viene in contatto con la soluzione alcalina, perde il colorito normale e diviene bruno o grigiastro. L'ebollizione deve essere modica e regolare e il liquido sovente agitato con una bacchettina di vetro. Si osserva allora che i brandelli vanno riducendosi di volume e perdono di consistenza, tanto che 10 minuti dopo, si vedono trasformati in piccole masse molli, grigiastre, abbastanza elastiche e di-tensibili. Prendendo uno di questi brandelli e sfiandolo con due aghi su un vetro portaoggetti, guardando a piccolo ingrandimento si vede una elegante trama di fibre splendenti, omogenee, a bordi oscuri e netti, che limitano spesso delle cavità rotondeggianti o allungate. Qua e là degli accumuli non ben distinti costituiti da granuli oscuri, ammassi giallastri e ocrecci e *detritus*. Esaminando con ingrandimento più forte (obb. 7, ocul. 3), si vedono le fibre ben distinte tra di loro, ma strettamente aderenti, intrecciate ed intersecate in ogni senso: si riconoscono quelle che dopo aver circondato una cavità passano a limitarne un'altra, si vede l'andamento tortuoso di esse e le estremità arricciate o biforcute.

I pezzi che hanno continuato l'ebollizione si assottigliano e si riducono di volume perdendo in consistenza ed elasticità, di modo che *dopo un quarto d'ora* lo sfiamento per apprestarne un preparato è più facile; si osserva inoltre che si vanno distaccando dei brandelli dalle parti più alterate. Al microscopio non vi sono differenze rimarcabili dalle già accennate, solo si nota che la trama o impalcatura è più alterata e disfatta; vi sono dei fascetti liberi costituiti da fibre riunite abbastanza saldamente, di maggior o minor lunghezza e delle fibre isolate: poi il solito *detritus* amorfo color giallo oro o bruno.

Continuando l'ebollizione si vedono quelle masse sempre più rimpicciolirsi fino a ridursi a dei granuli nerastri, grandi quanto una capocchia di spillo, i quali, schiacciandoli, si sgretolano; tutto ciò accade dai 20-30 minuti di ebollizione. In questo tempo si vede che tutto il liquido è divenuto grigio-nerastro, tiene sospesi i detti grani e non vi sono più tracce di blocchi o masse, però vi sono natanti dei filamenti.

Centrifugando il liquido e osservando col microscopio il deposito non si riconosce più tessuto polmonare, solo fibre spezzettate che hanno perduto il primitivo splendore, i contorni non sono netti, nè presentano le estremità arricciate: mai ho ritrovato un aggruppamento di fibre da ricordare l'impalcatura di un alveolo. Un *detritus* granuloso, nerastro riempie abbondantemente il campo microscopico.

Più volte ho ripetuto detto esperimento con polmoni sani, e, salvo differenze minime di minuti, mai oltrepassando i 35 minuti, ho assistito sempre alla dissoluzione completa del tessuto.

Adoperando la soluzione al 5 % gli stessi fatti si osservano un poco più lentamente, dai 30 ai 45 minuti di ebollizione.

Tali risultati sono così importanti e così evidenti che non lasciano nell'animo il dubbio di un possibile errore e inesattezza, tanto più che concordano perfettamente con i risultati dei pezzi di polmone messi nel termostato.

* * *

Riguardo al comportamento dei polmoni malati, seguendo lo stesso procedimento, ho trovato quanto segue:

Il polmone affetto da *polmonite lobare* nello stadio di infiltrazione rossa e grigia si comporta press'a poco in modo eguale al normale: in un caso in cui si osservava l'avviamento all'esito in suppurazione, dopo un quarto d'ora di modica ebollizione il polmone si era ridotto in *detritus* omogeneo, informe.

Allo stesso modo nella *polmonite caseosa* ed *ulcerosa tubercolare* si ha una dissoluzione rapida in poltiglia.

In un caso di *infarto polmonare* non ho trovato diminuzione alcuna della resistenza della trama elastica, tranne che una parte, la quale si presentava di colorito grigio-giallastra.

Ritengo perciò che allorquando si rinvencono fibre elastiche durante un infarto polmonare, questo debba subire un disfacimento e disgregazione, trasformandosi in ascesso.

* * *

Termostato. — Dei pezzetti di polmone (4-5) lavato e tagliuzzato come sopra, vengono posti in una provetta contenente soluzione di potassa al 5%, chiusa con batuffolo di ovatta; il termostato va tenuto a 37° centigradi.

Dopo 6 ore si vede il liquido di colorito più o meno roseo, e galleggianti alla superficie i pezzi di polmone divenuti oscuri. Togliendo il batuffolo si nota un distinto odore di colla, agitando la provetta si vede che i pezzi mantengono il loro aspetto, ma si vanno lacerando alla periferia: prendendo fra i polpastrelli si sente che dette masse non possiedono la primitiva consistenza e fanno aderire lassamente le dita. Con degli aghi si possono dissociare facilmente e facendone un preparato microscopico a piccolo ingrandimento si vede un ammasso di fibre intrecciantesi in ogni senso, costituenti una impalcatura ancora resistente: le fibre si presentano a contorni netti, molto rifrangenti alla luce, con estremità libere ritorte e arriecciate: alcune cellule non riconoscibili e contenenti detritus incolore o giallo oro.

Dopo 12 ore. Il liquido è più torbido, l'aspetto dei blocchi è identico; la coazione delle dita è diminuita; l'aspetto microscopico pressochè identico.

Dopo 24 ore. I pezzi di polmone si vedono ridotti a piccoli blocchi, alla periferia quasi trasparenti e da cui facilmente si distaccano dei brandelli. Al microscopio

si vede nettamente l'impalcatura del tessuto elastico e le fibre che dopo aver contornato un alveolo si incrociano e ne delimitano un altro. Il parenchima è completamente scomparso, solo qua e là dei blocchi informi più o meno intensamente coloriti in giallo. Si vedono molte fibre completamente dissociate, più o meno arricciate e lunghe; talora sono raggruppate a fascetti.

Dopo 30 ore. Il liquido è più torbido, i pezzi di polmone sono più disfatti e più piccoli. Agitando la provetta dalla periferia dei blocchi si distaccano brandelli trasparenti che vanno al fondo. L'esame microscopico dimostra una dissociazione maggiore delle fibre elastiche.

Dopo 36 ore. Se si prende una provetta già agitata rimangono galleggianti scarsi brandelli e al fondo un abbondante deposito fioccoso più o meno bruno; agitando il liquido quei brandelli si disfanno maggiormente. Aspirato con una pipetta il fondo e osservato col microscopio si vedono fasci di fibre elastiche molto alterate nella rifrangenza e nettezza dei margini; ammasso granulare bruno cristallini di ematoidina che riempiono tutto il campo.

Dopo 42-48 ore. Se la provetta non è stata scossa antecedentemente, il liquido appare più o meno roseo, avente alla superficie una massa grigia, la quale ai minimi movimenti si discioglie e va al fondo intorbidando il liquido. Se invece la provetta è stata già agitata nelle ore antecedenti, tutto il polmone si trova ridotto ad ammasso grigio al fondo. Aspirando con unapi petta si vedono esili fiocchetti oscuri e detrito informe; al microscopio non si riconoscono fibre elastiche, ma solo qualche frustolino poco rifrangente, senza biforcazioni; altri elementi assolutamente irriconoscibili, detritus bruno e blocchi di cristalli giallo intenso.

Lasciando ancora per 24 ore in termostato, in complesso tre giorni, non si riconoscono nemmeno più quei sottili frustolini che presumibilmente erano di origine elastica; così pure l'odore di colla è del tutto scomparso.

Questa disgregazione e dissoluzione del tessuto polmonare avviene nello stesso tempo se il polmone è di bambino o di adulto.

Adoperando la soluzione di potassa al 10 % si osservano gli stessi fenomeni in periodo di tempo più breve e precisamente *dopo 24 ore* si vede quello sfioccamento dei pezzi di polmone come con l'altra soluzione alle 30-36 ore, e basta un giorno e mezzo per vedere dei corpicciuoli nerastri come carbonizzati, che si schiacciano premendoli alla parete della provetta e al microscopio nulla più è riconoscibile.

Riassumo qui i risultati delle osservazioni con polmoni affetti da varie malattie, avvertendo che mi sono servito della soluzione di potassa al 5 %.

La *polmonite lobare* nello stadio di infiltrazione rosso o grigio non presenta nulla di rilevante; nel caso già citato con avviamento all'esito in suppurazione il tessuto polmonare dopo 24 ore si presentava disgregato con fascetti e fibre elastiche molto alterate.

Nella *tubercolosi* i risultati sono stati incerti e vari; nella bronchite e peribronchite tubercolare non molto avanzata la dissoluzione avviene tra le 36-42 ore. Nella

polmonite tubercolare senza formazione macroscopica di cavernule la distruzione ha luogo in 30 ore, allorchè esistono caverne dopo 24 ore, e talora anche prima, si vede un *debritus* amorfo e fioccoso, di cui non si poteva riconoscere nulla al microscopico.

Nell'*infarto emorragico* non esiste diminuzione alcuna della resistenza elastica.

OSSERVAZIONI.

Dai fatti sopra esposti mi pare evidente che il processo dell'ebollizione per la ricerca delle fibre elastiche nell'espettorato si debba completamente abbandonare o per lo meno modificare, giacchè l'azione prolungata (24 ore) della soluzione alcalina distrugge o altera quelle poche fibre che potrebbero trovarsi nell'espettorato. Questa ipotesi è confermata dal fatto che nelle comuni ricerche le fibre elastiche appaiono più pallide, non si rinvencono in fasci e molto raramente si vede la trama di un alveolo.

Inoltre è logico pensare che quando le fibre vengono espulse non sono staccate di recente dal parenchima polmonare e che, a causa del lento processo dissolutivo del polmone, sono prima alterate nella nutrizione, poi più o meno energicamente attaccate dall'ambiente alcalino del secreto ed essudato, dal fermento triptico del Filhene che è capace di disgregarle e che non è esclusivo della cangrena polmonare.

Date quindi queste alterazioni e modificazioni, esse non possiedono più quel grado di vitalità che le è proprio e l'azione ulteriore della potassa le deve notevolmente danneggiare.

Qualcuno può obiettare che tuttavia con quel processo sono state rinvenute fibre elastiche nell'espettorato. Non contrasto tale affermazione, ma l'esperienza di molti professori e colleghi d'ospedale non è favorevole a tale ricerca, sia perchè prima di avere un risultato positivo hanno dovuto ripetere la prova 3 o 4 volte, sia perchè più spesso riesce negativa o al massimo con la visione di frustolini di fibre isolate senza i caratteri propri, non ostante che l'esame fisico dimostrasse l'esistenza di una cavità.

* * *

Come risultato delle numerose ricerche eseguite, per procedere all'ame delle fibre elastiche nell'espettorato consiglio di mettere una certa quantità del materiale con ugual parte di soluzione di potassa 5 % e fare una ebollizione modica per soli 5-10 minuti, ritenendo quest'ultimo come tempo massimo.

In tal modo non si ha uno schiarimento completo della miscela, ma d'altra parte siamo sicuri che le fibre elastiche presumibilmente esistenti non soffrono una dissoluzione. Raffreddato il liquido si centrifuga, e dal deposito si fanno preparati microscopici. Con tal procedimento piuttosto rapido le fibre elastiche conservano le loro proprietà e risaltano per la loro rifrangenza, gli altri elementi, leucociti, cellule purulenti, muco, corpi estranei sono ridotti in detritus non bene riconoscibile. Consiglio inoltre non limitarsi mai ad esaminare un solo preparato, e piuttosto che osservarlo a lungo è meglio scorrere 3-4 preparati, perchè le fibre elastiche quando sono presenti, risaltano a prima vista all'osservatore.

Un altro procedimento che pure mi ha permesso di scoprire la presenza delle fibre elastiche è il seguente. Si prendono delle porzioni dei blocchi o lenticchie di sputo e si pongono su un porta oggetti, schiacciandole con altri porta oggetti in modo da ottenerne 4-5-6 preparati aventi ognuno un sottile strato. Dopo averli essiccati all'aria o al calore vi si fa cadere una goccia di soluzione di potassa caustica al 5 % ricoprendo con copri-oggetti grandi. In tal modo il preparato si rischiarà, e avendone già pronti un certo numero si osservano al microscopio con rapidità, poichè l'alta rifrangenza delle fibre spicca sugli altri elementi del preparato. Volendo rischiarare maggiormente si fa scorrere un'altra goccia della medesima soluzione aspirando con carta bibula.

Questi due procedimenti sono abbastanza rapidi, non richiedono una tecnica speciale nè difficile, e di risultato sicuro.

Nella *tuberculosis* in genere le fibre sono in frustoli più o meno isolati e minuti, conglobati da muco e pus, nell'*ascoso* talora si possono vedere dei pezzi di polmone di qualche millimetro (Bizzozero): il Salkowski dice di aver veduto un cenocio di parenchima di 2-5 centimetri. In tali casi si riconoscono dei fasci di fibre più o meno grossi, talora poco alterate, con goccioline di grasso giallo e qua e là pigmento libero con aghi di acidi grassi. Nella *cangrena* possono mancare i pezzi macroscopici di tessuto polmonare, così pure essere di difficile ricerca microscopica le fibre elastiche molto deteriorate.

COLORAZIONE DELLE FIBRE ELASTICHE.

Numerosi e svariati sono stati i metodi di colorazione delle fibre elastiche in genere: essi si possono distinguere in 4 gruppi.

1° gruppo. In questo la rete del tessuto elastico è messa in evidenza per mezzo della dissoluzione della sostanza collagena e perciò può chiamarsi: *metodo per macerazione*.

Con tale processo però le fibre vengono più o meno alterate sia nei bordi che nel loro intrecciamento, e la colorazione è di secondaria importanza.

Ricorderò i più importanti.

EBNER fa bollire il tessuto in soluzione di potassa e poi lascia per 24-48 ore in soluzione diluita di fuxina: le fibre vengono intensamente colorate in rosso.

RENAULT si serve dell'acido picrico e poi colora con picrocarminio e purpurina.

SCHÄFER adopera il rosso magenta.

BALZER colora prima con eosina e poi lava i pezzi con soluzione di potassa.

KÖLLIKER fa una miscela di acido acetico, ossalico e cloridrico, poi colora con safranina o fuxina.

KUSKOW macera prima con pepsina e acido ossalico, poi colora con acido picrico.

DÜRHSSEN adopera soluzione di potassa al 2 % e poi colori di anilina.

SAPPEJ mescola acido solforico e acetico, quindi colorazione comune.

II° gruppo. Può chiamarsi: *metodo per impregnazione.*

UNNA si serve di una soluzione alcoolica acida di dahlia.

LUSTGARTEN soluzione di bleu vittoria.

MARTINOTTI G. soluzione alcoolica di safranina.

HEITZMANN soluzione ammoniacale di carminio.

SCHÜTZ soluzione di acido picrico e fuxina acida.

MARTINOTTI C. acido arsenico e soluzione di nitrato d'argento in glicerina.

III° gruppo. Questo adopera come sostanza colorante una soluzione basica e può dirsi: *metodo per colorazione basica.*

A seconda poi del liquido decolorante possiamo distinguere una prima classe che si serve di un *acido*, e una seconda di un *mordente*.

Alla prima appartengono:

TAENZER colora con vesuvina o soluzione acquosa di bleu, poi lascia i pezzi per 24 ore in soluzione alcoolica di fuxina e acido nitrico. Decolora con acido nitrico e acqua acetica.

MANCHOT colora con soluzione acquosa concentrata di fuxina e decolora con soluzione di zucchero acidificata con acido solforico.

MIBELLI adopera soluzione di safranina decolorando con acido cloridrico.

KOEPPEL si serve di una soluzione concentrata di violetto di genziana; poi passa il pezzo nella soluzione jodo-jodurata, infine lava con cloruro di sodio.

Alla seconda classe appartengono:

HERXHEIMER soluzione di ematosillina e poi percloruro di ferro ed alcool.

BURCI ematosillina e carminio, poi soluzione alcoolica satura di auranzia.

WOLTERS lascia i pezzi per 24 ore in soluzione di clorato di vanadio.

BENEKE ha approntato una modificazione al metodo di Weigert per la colorazione della fibrina.

IV° gruppo. Questo contiene metodi di colorazione più sicuri e ben determinati, potrebbe dirsi *delle colorazioni specifiche* perchè è stato veduto che solamente le fibre elastiche nei tessuti assumono un colorito caratteristico netto: in contrapposto al gruppo antecedente può chiamarsi *metodo per colorazione acida.*

UNNA-TAENZER. Questi autori avevano pubblicato un primo metodo in cui si adoperava come liquido colorante una soluzione alcoolica diorceina (orceina parti 0.10, alcool a 95 % p. 20, acqua distillata p. 5) e per decolorante alcool cloridrico (acido cloridrico p. 0.10, alcool p. 20, acqua distillata p. 5). Questi liquidi vengono mescolati a parti uguali dove si lasciano per 12-24 ore.

Successivamente modificarono la costituzione dei liquidi adoperando orceina p. 1, acido cloridrico p. 1, alcool assoluto p. 100: in questo i pezzi vengono lasciati per 15-30 minuti, poi sono decolorati dall'alcool all'acido cloridrico.

In tal modo le fibre elastiche assumono una colorazione più o meno bruna e sono nettamente distinte dal resto del preparato che è incolore o tinto lievemente in rosso.

LIVINI. Nell'Istituto di anatomia umana a Firenze l'autore ha proposto ed eseguito una modificazione nel processo della colorazione di Unna-Taenzer allo scopo di avere una netta ed esatta colorazione dei filamenti sottili delle fibre elastiche. In un vetro da orologio mescola 30 gocce della seconda soluzione di orceina filtrata con 5-10 centimetri cubi della soluzione di alcool cloridrico già nota: vi immerge le parti da colorare e ve le lascia dalla mattina alla sera, coprendo esattamente il recipiente in modo di avere un *minimum* di evaporazione. Poi lava il preparato accuratamente con alcool, ed anche lasciandovelo molto tempo non succede eccessiva decolorazione.

In tal modo anche le terminazioni più sottili delle fibre elastiche rimangono tinte in rosso bruno, quasi nero; i preparati sono più chiari ed eleganti e l'autore è riuscito ad osservare nei tessuti fetali le fibre elastiche che si vanno costituendo.

Questa modificazione del Livini non è di scarsa importanza perchè avere esattamente indicata la quantità del liquido colorante e del decolorante è di molto valore in quanto che queste colorazioni sono molto difficili e spesso non riescono in modo soddisfacente.

WEIGERT. Riferisco la preparazione autentica del suo liquido poichè in vari trattati non è riportata esattamente. In 200 emc. di soluzione di fuxina all'1 % (può essere adoperato il rosso rubino, rosso magenta o rosso anilina) si aggiungono gm. 4 di resorcina (ovvero acido fenico) e si cuoce a lungo la miscela. Quando si è raffreddata e depositata vi si versano 25 emc. di percloruro di ferro e si ripone al fuoco per 2-5 minuti. Dopo che si è di nuovo raffreddato si filtra lasciando il deposito, il quale si mescola con 200 emc. di alcool a 94 % e si filtra anch'esso. Alla soluzione colorante ottenuta si aggiungono 4 emc. di acido cloridrico concentrato e 200 emc. di alcool.

Le parti da colorare si lasciano per 15-30 minuti, servendo quindi come decolorante l'alcool e rischiarante lo xilolo; le fibre elastiche presentano una colorazione violetto oscuro.

Come ben si comprende non tutti i processi sopra descritti sono appropriati per l'argomento di cui mi occupo, riferisco ora i metodi e le modificazioni appropriate dagli autori specialmente per la *colorazione delle fibre elastiche nell'espettorato*.

Il GATTI (1893) servendosi della colorazione con l'orceina (prima soluzione), così procede: distende una abbondante quantità di sputo su vetrini copri oggetti, li fissa in alcool assoluto e poi li passa nel liquido colorante lasciandoveli 3 ore: quindi vengono lavati in alcool e rischiarati con xilolo. L'autore afferma che in tal modo le fibre elastiche si riconoscono più sicuramente e più abbondanti; riscontrò la presenza di esse negli escreti della polmonite in risoluzione in 2 casi su 3, affermò inoltre di averle rinvenute in 3 casi di enfisema polmonare.

Il MAY (1900) ha fatto le sue ricerche nella Clinica medica di Monaco e il suo processo consta di 3 tempi:

1° *Soluzione*. — Diluisce una certa quantità di espettorato con pari volume di soluzione di soda caustica al 10% e riscalda a bagno-maria agitando la miscela fino a completa soluzione; quindi centrifuga e toglie via il liquido sovrastante, lasciando al fondo il sedimento.

2° *Colorazione*. — Unisce al sedimento circa 2 centimetri cubi di soluzione di orceina Unna-Taenzer, ed ottiene una colorazione violetta prodotta dal liquido alcalino; poche gocce di acido cloridrico (2-5) sono sufficienti a ripristinare il colorito rosso della soluzione di Unna. Pone allora il tubo della centrifuga contenente la miscela a bagno-maria per 2-5 minuti, fissando in tal modo la colorazione che a freddo richiederebbe due giorni.

3° *Decolorazione*. — Aggiunge alcool cloridrico nella nota soluzione agitando la provetta e centrifugando di nuovo. Dal sedimento toglie una goccia, la mette su un porta oggetti e la esamina al microscopio. Le fibre elastiche appaiono più o meno colorate in bruno violetto, le altre fibre e il *debris* rimangono scoloriti.

Questo procedimento è però abbastanza complesso e richiede un tempo piuttosto lungo.

UNNA-TAENZER. Questi autori si sono serviti della seconda soluzione di orceina. Dopo aver disteso l'espettorato su un porta oggetti mettono questo in un recipiente che contiene la soluzione colorata dove si lascia per 15-30 minuti; la colorazione avviene meglio a bagno-maria. Poi si decolora con l'alcool cloridrico fino a completo scoloramento.

Le fibre elastiche si presentano di un colorito più o meno oscuro o bruno a seconda della permanenza maggiore o minore nei liquidi colorante e decolorante; esse sono nettamente distinte e tutti gli altri elementi sono incolori o leggermente tinti in rosso.

MICHAELIS. Questo autore ha pubblicato uno studio sul chemismo dell'elastina

rispetto alle sostanze componenti il liquido colorante del Weigert ed esegue la colorazione delle fibre elastiche nell'espettorato nel seguente modo. Il porta oggetti su cui è disteso l'escreato viene posto in un recipiente cilindrico contenente il liquido del Weigert, il quale, per la presenza dell'alcool, serve anche da fissatore. Dopo averlo lasciato qui per mezz'ora lo lava con acqua e poi lo passa nell'alcool cloridrico al 3% fino a che non si vede decolorato, poi lava per togliere l'eccesso di acido ed osserva al microscopio: le fibre elastiche si presentano colorate in violetto oscuro e le fibre vegetali o gli elementi estranei rimangono incolori. Egli aggiunge che il percloruro di ferro, agendo come ossidante, può venire sostituito dal persolfato d'ammonio o con altri fenoli (pirogallolo, ortocresolo); invece le ammine e il paracresolo non rispondono bene allo stesso modo. Al posto della fuxina si possono adoperare altri colori basici (tienina, bleu di toluidrina, i comuni violetti e la dimetilsafranina), o le basi aromatiche, la anilina idroclorica, la dimetilammina e la paratoluidina; invece il bleu di metilene dà un precipitato che non colora le fibre elastiche. Le soluzioni acquose dei sopra detti colori danno una certa diversità nella tinta e le fibre assumono varie *nuances*.

Nelle mie ricerche ho eseguito tanto la colorazione con la soluzione seconda dell'orceina, quanto con il liquido del Weigert. Prendo una goccia del deposito centrifugato dopo ebollizione (durata al massimo 10 minuti) dello sputo con la soluzione di potassa 5%; la spando su un vetro porta oggetti lasciandola essiccare, ovvero ho quel sottile strato di escreato dopo l'azione della soluzione di potassa. Metto il preparato in recipiente cilindrico con l'una o l'altra sostanza colorante: trattandosi dell'orceina posta a bagno-maria, dopo 15 minuti il preparato è già sufficientemente colorato e basta un rapido passaggio in alcool cloridrico per decolorarlo: trattandosi del liquido del Weigert, a freddo, occorrono dai 15 ai 30 minuti, regolandosi dall'esperienza e poi si decolora al solito con alcool cloridrico.

In ambedue le maniere ho sempre ottenuto belli preparati, molto netti ed evidenti.

RIASSUNTO E CONCLUSIONI.

I. Mettendo dei pezzi di polmone umano di *individuo sano* (è indifferente se bambino o adulto) del volume di 1 centimetro cubo in soluzione di potassa al 10% e stabilita una modica ebollizione, si osserva:

2) Dopo 10 minuti detti blocchetti sono ridotti di volume e hanno perduto di consistenza. Al microscopio le fibre elastiche appaiono molto rifrangenti, a bordi oscuri e netti; formano una elegante trama intrecciata in ogni senso, la quale costituisce l'impalcatura degli alveoli del parenchima polmonare: si riconoscono bene le fibre che dopo aver circondato un alveolo passano a limitarne un altro. Gli elementi cellulari sono irriconecibili.

5) Dopo 15 minuti i pezzi sono ridotti a piccole masse molliccie, grigio-giallastre con vari brandelli distaccati: la consistenza e l'elasticità sono molto ridotte. Al microscopio l'impalcatura appare più alterata e qua e là disfatta: molte fibre, alcune riunite a fasci, altre isolate, si rinvengono del tutto distaccate e libere.

7) Dopo 15-30 minuti il liquido non contiene altro che granuli nerastri più o meno grossi e dei filamenti opachi. Previa centrifugazione si ottiene un deposito che al microscopio risulta composto di piccole fibre spezzettate, dei frustolini che non possiedono più i primitivi caratteri, per cui non siamo in grado di dichiararle fibre elastiche. Mai ho potuto vedere un fascio o un aggruppamento da ricordare anche lontanamente l'impalcatura di un alveolo.

Adoperando la soluzione di potassa al 5% si assiste del pari al disfacimento del polmone, però occorrono dai 30 ai 40 minuti per osservare la completa dissoluzione dei blocchetti di polmone.

II. Ripetendo le stesse osservazioni con blocchi di *polmone malato* (vedi sopra) non si osserva una diminuzione notevole della resistenza altro che allorquando la malattia si avvia ad un disfacimento o ascesso.

III. Ponendo *in termostato* a 37 centigradi i pezzi di *polmone sano*, messi in una provetta riempita a metà circa con soluzione di potassa al 5%, chiuso al batuffolo di ovatta:

2) Dopo 12 ore il liquido è tinto in roseo, un pò torbido, i blocchi sono rammolliti e diminuiti di volume. All'aprire della provetta colpisce un odore di colla di pece; si ha una aderenza delle dita se si prende un pezzo di polmone fra i polpastrelli. L'impalcatura è già alterata, le fibre sono divariate con le estremità libere.

3) Dopo 24 ore l'odore di colla va perdendosi, i blocchi del polmone hanno alla periferia dei brandelli quasi trasparenti che si distaccano e si dissolvono alla compressione. Al microscopio si osserva ancora la trama polmonare e le fibre che da un alveolo passano a delimitarne un altro: vi è *detritus* informe e colorato in giallo. Esistono fibre e fasci di fibre completamente isolate e staccate.

7) Dopo 42-48 ore. Se la provetta non era stata agitata il liquido è roseo e alla superficie una massa grigia galleggiante, la quale alle minime scosse si disgrega e si discioglie cadendo lentamente al fondo. Se la provetta era stata già adoperata antecedentemente, allora il liquido è torbido con deposito al fondo della provetta. Con la centrifugazione si ottiene un ammasso che esaminato al microscopio non lascia riconoscere elementi elastici, si vedono dei frustolini poco rifrangenti, a contorni non netti, senza o con rare biforcazioni: un *detritus* bruno è cosparsa su tutto il preparato.

Adoperando la soluzione di potassa al 10% si osservano gli stessi processi in tempo più breve: dopo 30 ore il polmone è completamente disfatto.

IV. Riguardo alla resistenza del *polmone malato* valgono le medesime osservazioni già fatte, cioè che si disgrega più presto solo allorquando il processo morboso si avvia al disfacimento.

V. Da ciò che si è detto risulta evidente che il polmone sano e le fibre ela-

stiche in esso contenute, sottoposte all'azione prolungata della soluzione di potassa, con l'aiuto del calore, si distruggono tutte e ciò avviene con l'ebollizione in tempo all'incirca uguale e quello suggerito del Fenwich per la ricerca delle fibre elastiche dell'espessorato. E' logico quindi pensare che lo stesso avverrà di quelle fibre che accidentalmente esistono nello sputo, le quali inoltre, per le considerazioni esposte più sopra, non possiedono più quel grado di resistenza loro proprio. Il metodo del Fenwich dice che l'espessorato deve mettersi con ugual quantità di soluzione di potassa al 10 %, deve bollire fino a dissoluzione e schiarimento completo della miscela, di più deve lasciarsi decantare per 24 ore. Questa ulteriore permanenza nel liquido alcalino non può non riuscire ulteriormente dannosa a quelle poche fibre elastiche che si trovavano nello sputo.

VI. Perciò, ricordando che l'ebollizione di 10 minuti con soluzione di potassa al 10 % su pezzi di polmone sano lasciava integra l'impalcatura del parenchima, consiglio il seguente procedimento:

Metto una certa quantità di espessorato (10-15 grammi) in una capsula di porcellana, la mescolo con ugual quantità di soluzione di potassa al 5 % e faccio bollire moderatamente per 5-10 minuti, non superando mai questo tempo. In tal modo qualche volta non avremo una completa dissoluzione o schiarimento della miscela, specie se si tratta di sputi densi e mucosi, ma d'altra parte si è certi che le fibre elastiche non vengono intaccate. Lasciata raffreddare la miscela si versa in provini da centrifuga facendo girare per un poco di tempo. Dal fondo si prende una piccola quantità che serve per apprestarne un preparato a fresco.

VII. Un altro procedimento ottimo consiste nel prendere quelle parti di sputo dette nummulari o lenticchie; schiacciarle strisciando fra più porta oggetti fino ad avere un sottile strato di espessorato e lasciarlo asciugare. Poi mettervi una goccia di soluzione di potassa al 5 o 10 %, ricoprire con copri-oggetti e osservare al microscopio.

In tal modo non si ha un campo così netto come col primo procedimento, perchè i leucociti, il muco, i corpuscoli purulenti, sono ridotti ad un *destritus*, tuttavia se esistono fibre elastiche, risaltano bene. D'altra parte la rapidità e semplicità del modo di apprestare preparati permette guardarne un gran numero.

VIII. Esistono metodi di colorazione che si possono dire *specifici* delle fibre elastiche; in tal modo si hanno preparati che presentano il vantaggio di poter essere conservati. Tra i metodi di colorazione consigliabili sono quelli del Michaelis, servendosi del liquido del Weigert, ovvero quello che adopera la seconda soluzione dell'orceina (Unna-Taenzer).

Quest'ultimo procedimento è preferibile:

- a) per la sua tecnica semplice;
- b) per la nettezza della colorazione;
- c) per la facile e semplice preparazione del liquido;
- d) perchè richiede un tempo breve;
- e) perchè successivamente possono farsi altre colorazioni.

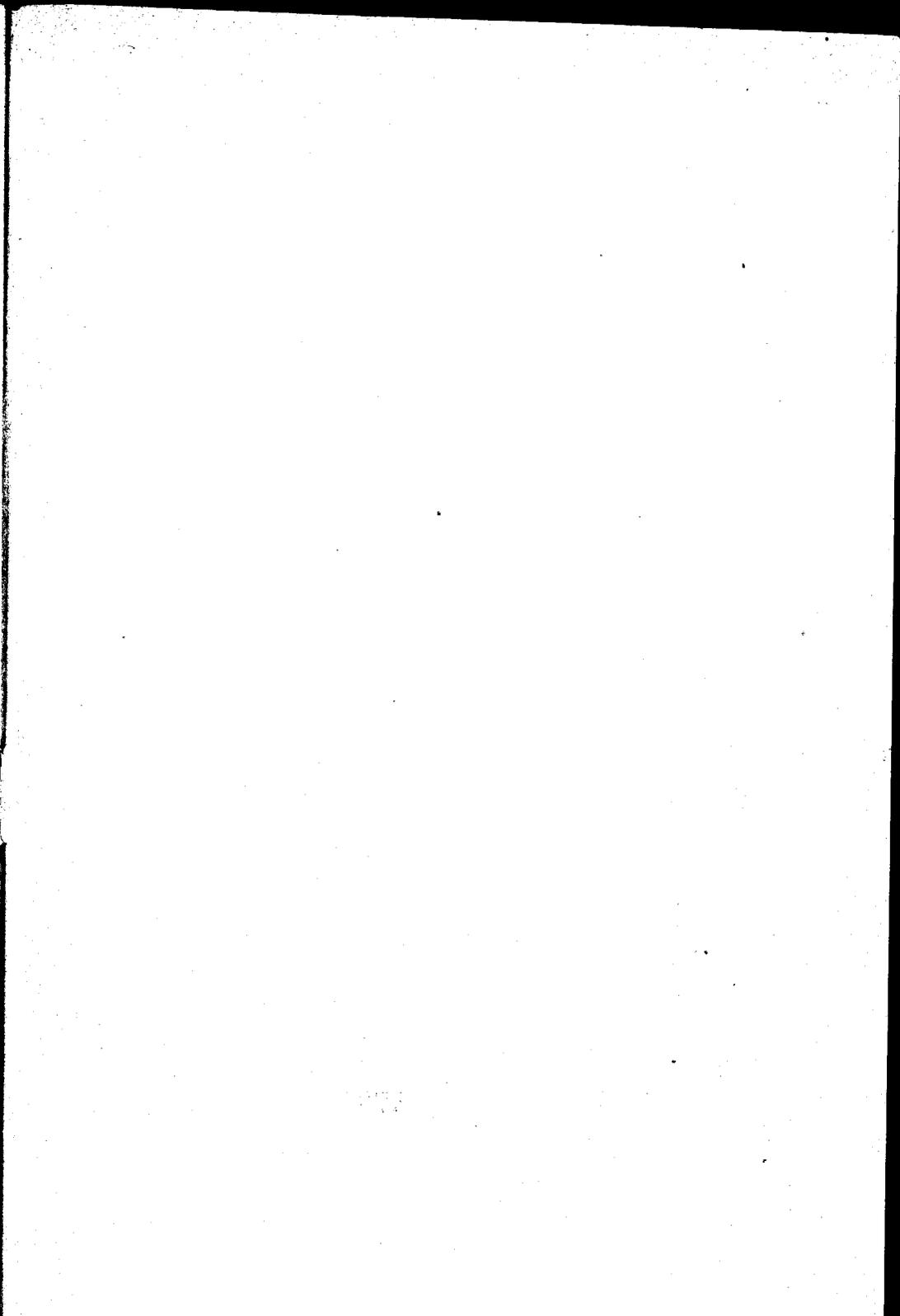
Ed ora sento il dovere di ringraziare il prof. Amico Bignami, il quale mi spinse a intraprendere le suddette ricerche e mi fu largo di consigli.

BIBLIOGRAFIA.

- BALZER. Archives de Physiologie, 1892.
 BENEKE. Verhätt. anatom. Gesell. Göttingen, 1893.
 BIZZOZERO. *Manuale di microscopia clinica*, 1901.
 CORNET. *Die Tuberculose*, in Spez. Pathologie H. NOTHNAGEL.
 DA COSTA. *Medical diagnosis with spec. refer. to practice medicine*.
 DELBANCO. *Zur Pathologie des elastisches Gewebes*, Münch. Med. Woch., 1900.
 DEVOTO. Archivio italiano di Clinica medica, 1898.
 EICHHORST. H. *Lehr. d. physik. Untersuchungsmethode inn. Krankheiten*.
 ESCHERICH. Deutsche Archiv f. Klin. Med., Bd. XXXVII, p. 196.
 Id. *Encyklopädie des Mikros. Technik. mit. besonder Berücksichtigung der Färbelchre*, 1903.
 FILHENE. *Sitzungsbericht der phys.-chim. Gesellschaft. Erlangen*.
 FISCHER. *Ueber der Wert der Elastinfärbung*, Münch. Med. Woch., 1902.
 Id. *Ueber Chemismus und Tech. der Weigertfärbung*, Virchow's Archiv. 1902.
 GATTI. Gazzetta medica di Torino, 1893, p. 175.
 HOPPE-SEYLER. *Handbuch Physiologisch und Pathol. chemischen Analyse*.
 JAKSCH. *La diagnosi delle malattie interne*.
 JORES-BONN. *Zur Kenntniss d. Regeneration u. Neubildung elastischen Gewebes*, Münch. Med. Woch., 1900.
 LIVINI. *Di una modificazione al « Unna-Taenzler »*, Monitore zool. ital., 1896.
 LENHARTZ. *Mikroskopie u. Chemie am Krankenbett*, 1904.
 MARAGLIANO e CANTANI. *Trattato italiano di patologia e terapia*.
 MICHAELIS. *Ueber d. Chemismus d. Elastinfärbung u. seine prakt. Anwendung auf Sputumpräparate*, Deutsche Med. Woch., 1901.
 MAY. *Orcein zum Nachweis elast. Fasern. in Sputum*, Deutsches Archiv f. Klin. Med. Bd. 68, p. 5-6.
 MEISSNER. *Ueber elastischen Fasern*, Deut. Med. Woch., 1896.
 MARTINOTTI. *Commentari Reale accademia torinese*, 1896.
 MIBELLI. *Monitore zoologico italiano*, 1890.
 RONZONI. *Significato dell'espertorazione delle fibre elastiche*, Gazzetta medica italiana, 1903, n. 36.
 ROETIG. *Neue Färbung d. elast. Fasern*, Archiv f. Mikros. Anatomie, 1900.
 SUPINO. *La ricerca delle fibre elastiche nell'espertorato*, Clin. medica. 1901, IX.
 SALLI. *Manuale dei metodi d'esame clinici*.
 SCHAEFER. *Zeitschrift Wissen Mikroskopie*, Bd. 10.
 TAENZER. *Monatschrift prakt. Dermatologie*.
 UNNA P. G. *Monatschrift prakt. Dermatolog.* Bd. 5, 12, 19.
 WEIGERT. *Central. Allgem. Patholog.*, 1898, n. 9.



57323



IL POLICLINICO

PERIODICO DI MEDICINA, CHIRURGIA E IGIENE

DIRETTO DAI PROFESSORI

GUIDO BACCELLI | **FRANCESCO DURANTE**

DIRETTORE DELLA R. CLINICA MEDICA
DI ROMA

DIRETTORE DEL R. ISTITUTO CHIRURGICO
DI ROMA

con la collaborazione di altri Clinici, Professori e Dottori italiani e stranieri

si pubblica in tre Sezioni distinte:

Medica — Chirurgica — Pratica

IL POLICLINICO

nella sua parte originale (Archivi) pubblica i lavori dei più distinti clinici e cultori delle scienze mediche, riccamente illustrati, sicché i lettori vi troveranno il riflesso di tutta l'attività italiana nel campo della medicina, della

LA SEZIONE PRATICA

chirurgia e dell'igiene. che per sé stessa costituisce un periodico completo, contiene lavori originali d'indole pratica, note di medicina scientifica, note preventive e tiene i lettori al corrente di tutto il movimento delle scienze mediche in Italia e all'estero. Pubblica perciò numerose e accurate riviste su ogni ramo delle scienze suddette, occupandosi soprattutto di ciò che riguarda l'applicazione pratica. Tali riviste sono fatte da valenti specialisti.

Pubblica brevi ma sufficienti relazioni delle sedute di Accademie, Società e Congressi di Medicina, e di quanto si viene operando nei principali centri scientifici, speciali corrispondenze.

Non trascura di tenere informati i lettori delle scoperte ed applicazioni nuove, dei rimedi nuovi e nuovi metodi di cura, dei nuovi strumenti, ecc. ecc. Contiene anche un ricettario con le migliori e più recenti formule.

Pubblica articoli e quadri statistici intorno alla mortalità e alle malattie contagiose nelle principali città d'Italia, e dà notizie esatte sulle condizioni e sull'andamento dei principali ospedali.

Pubblica le disposizioni sanitarie emanate dal Ministero dell'Interno, potendo esserne informato immediatamente, e una scelta e accurata Giurisprudenza riguardante l'esercizio professionale.

Pubblica in una parte speciale tutte le notizie che possono interessare il ceto medico: Promozioni, Nomine, Concorsi, Esami, Condotte vacanti, ecc.

Tiene corrispondenza con tutti quegli abbonati che si rivolgeranno al *Policlinico* per questioni d'interesse scientifico, pratico e professionale.

A questo scopo dedica una rubrica speciale e fornisce tutte quelle informazioni e notizie che gli verranno richieste.

IL POLICLINICO

contiene ogni volta accurate recensioni bibliografiche, e un indice di bibliografia medica, col titolo dei libri editi recentemente in Italia e fuori, e delle monografie contenute nei Bollettini delle Accademie e nei più accreditati periodici italiani ed esteri.

A questo proposito si invitano gli autori a mandare copia delle opere e delle monografie da loro pubblicate.

LE TRE SEZIONI DEL POLICLINICO

adunque, per gli importanti lavori originali, per le copiose e svariate riviste, per le numerose rubriche d'interesse pratico e professionale, sono i giornali di medicina e chirurgia i più completi possibili e che meglio rispondono alle esigenze dei tempi moderni.

ABBONAMENTI ANNUI:	Italia	Unione postale	Per l'oro
1. Alla sezione medica e alla sezione pratica . . .	L. 15	20	} L. oro
2. Alla sezione chirurgica e alla sezione pratica »	15	20	
3. Alle tre sezioni insieme	20	27	
4. Alla sola sezione pratica	10	12.50	

Un num. separato della sezione medica o chirurgica Lire UNA

Un num. separato della sezione pratica cent. 50.



Gli abbonamenti cominciano a decorrere dal primo di gennaio di ogni anno.

Il *Policlinico* si pubblica sei volte il mese.

La sezione medica e la sezione chirurgica si pubblicano ciascuna in fascicoli illustrati di 48 pagine, che in fine di anno formeranno due distinti volumi.

La sezione pratica si pubblica una volta la settimana in fascicoli di 32 pagine.