

## **Mediciones de Glucosa Verdadera en Sangre Venosa, Sangre Capilar y Suero, en Adultos Sanos Costarricenses**

DR. GERMAN F. SÁENZ R.\*

DR. EDUARDO VINOCOUR G.\*

SR. ELIÉCER VALENCIANO V.\*

DR. GUIDO ARROYO S.\*

DR. FERNANDO ATMETLLA M.\*

### INTRODUCCION

De todos los análisis que ordinariamente se practican en Química Clínica ninguno presenta más profusión de métodos que la glucosa. Los dos más conocidos son el de Folin-Wu (6) y el de Somogyi-Nelson (22). El primero realmente determina sustancias reductoras totales de ahí que se le conozca con el nombre de "reductemia total" ya que se incluyen bajo condiciones normales y de ayuno de 20 a 30 mg% de diversas sustancias reductásicas que no son glucosa (1, 2, 9, 16, 19, 25). Estos valores falsamente elevados de la glucemia se hacen evidentes al comparar dicho método con el que utiliza filtrado de Somogyi y el de la glucosa-oxidasa (2, 7, 8, 13, 19).

Sahyun (20) en 1936 fue el que primero utilizó la combinación del filtrado cínico de Somogyi con la reacción de color de Folin-Wu. Esto permitió obtener resultados de glucemia prácticamente iguales a los conseguidos con el método original de Somogyi-Nelson. Posteriormente Lauber y Mattice (11) preconizaron con todo detalle la modificación de Sahyum, comprobándose por autores como Monsenthal y Barry (16) y Henry (8), la bondad del método que nos ofrece, entre otras cosas, una medición de glucosa verdadera.

En nuestro medio Mora y Solano (18) aplicaron la modificación precitada obteniendo valores similares para glucosa verdadera de acuerdo con lo reportado en la literatura y también con lo hallado en Costa Rica para dicho carbohidrato con base en el uso del método clásico y original de Somogyi-Nelson, en virtud de un trabajo (7) dirigido por el primer autor de la presente investigación.

En esta comunicación hacemos referencia de los resultados obtenidos para glucemia normal de ayuno en población universitaria aparentemente sana, utilizándose el método de Lauber y Mattice (11) tal y como lo preconiza Henry (8),

---

\* Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

y que es esencialmente el mismo utilizado por Mora y Solano (18) en población asegurada normal de nuestro país y mayor de 10 años.

Asentimos con los autores anteriores en cuanto a la designación de método de "Somogyi modificado", y en este sentido contribuimos a darle mayor difusión a un método analítico que ha ganado popularidad y que ha sido perfeccionado y modificado gracias al esfuerzo de muchos investigadores.

Habiéndose obviado entonces la dificultad que impedía una buena exactitud en las pruebas cuantitativas para glucosa sanguínea, queda aún por resolver la interpretación de las diferencias arterio-venosas de ese glúcido.

Este trabajo, pretende modestamente contribuir al mejor conocimiento de ese problema, al señalar las diferencias glucosídicas entre sangre total, suero y sangre capilar.

### MATERIAL Y METODOS

Se tomaron muestras de estudiantes universitarios, con edades comprendidas entre los 17 y 25 años, con pesos que oscilaron entre 95 y 185 libras, exigiéndose por rápido interrogatorio que estuvieran en estado de ayuno.

Las muestras de sangre venosa se tomaron teniendo la precaución de no someter el brazo a una estasis mayor de un minuto. La mezcla anticoagulante utilizada fue sales EDTA-NaF (10 mg EDTA y 50 mg de NaF, para 6-8 ml de sangre). Las muestras de suero se obtuvieron luego de dejar media hora los especímenes de sangre total a 37°C en baño de maría, con posterior centrifugación. Las muestras de sangre capilar (arterial) se obtuvieron por punción profunda de la yema de un dedo, utilizándose lancetas descartables. En la mayoría de los casos fue posible obtener más de 0,5 ml de sangre los cuales se anticoagularon de inmediato con 7 mg de NaF y 3 mg de EDTA.

Los filtrados libres de proteínas practicados de acuerdo con el método de Somogyi (22), se realizaron el mismo día de la obtención de las muestras. Las reacciones colorimétricas para la glucosa se hicieron seguidamente con base en el uso del fosfomolibdato de Folin-Wu (6). Las lecturas espectrofotométricas se llevaron a cabo en un Coleman Junior modelo 6/20 A, utilizándose cubetas de 19 x 105 mm.

*Fundamento del método de "Somogyi modificado" para glucosa verdadera de acuerdo con Lauber y Mattice (11), y Henry (8).*

#### *Fundamento*

Se eliminan las proteínas y la mayor parte de los "sacaroides" por precipitación con  $Zn(OH)_2$  (técnica de Somogyi). El  $Cu^{++}$  del reactivo de Folin y Wu es reducido por la glucosa a  $Cu_2O$ , por el aire. Este  $Cu_2O$  reduce ulteriormente el ácido fosfomolibdico, a "azul de molibdeno" el cual se mide espectrofotométricamente; el color es estabilizado por calentamiento.

#### *Macrométodo para sangre total, suero o plasma*

##### *Reactivos*

- a) Reactivos precipitantes de las proteínas:  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  al 10%; NaOH 0,5N (20g/L.).

Si estos reactivos se han preparado correctamente, 10 ml del reactivo de Zinc requieren de 10,8 a 11,2 ml del álcali (NaOH 0.5 N) para producir un

color rosa permanente con fenolftaleína. Compruébese diluyendo 10,0 ml del reactivo de Zinc con 50-79 ml de agua, y titulando lentamente y con agitación continua.

- b) Reactivo de cobre. Disolver 40 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  anhidro en aproximadamente 400 ml de agua, en un matraz volumétrico de 1 litro de capacidad. Añadir 7,5 g de ácido tartárico; cuando éste se ha disuelto, agregar 4.5 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Mezclar y diluir hasta un litro. Este reactivo es estable indefinidamente a la temperatura ambiente.
- c) Reactivo de ácido fosfomolibdico. Agregar, a 70 g de ácido molibdico y 10 g de tungstato sódico, 400 ml de NaOH al 10% y 400 ml de agua. Hervir durante 20 a 40 minutos para eliminar todo el  $\text{NH}_3$ . Dejar enfriar a la temperatura ambiente, y añadir entonces agua hasta un volumen de aproximadamente 700 ml. Agregar 250 ml de ácido ortofosfórico concentrado ( $\text{H}_3\text{PO}_4$  al 85%) y completar el volumen hasta un litro.
- d) Patrón concentrado de glucosa, solución al 1%. Se elige glucosa de elevada pureza. Satúrese la solución con ácido benzoico. Es estable indefinidamente en la nevera. 1 ml = 10 mg.
- e) Patrón de glucosa diluido. Se prepara diluyendo al 1:100 la solución concentrada. Prepárese fresco cada día. 1 ml = 0.1 mg.

#### Técnica

- 1) Añadir 0.5 ml de sangre anticoagulada a 3,5 ml de agua y mézclese. Agregar 0.5 ml de sulfato de Zinc al 10%, mezclar, añadir 0.5 ml de NaOH al 0.5 N y volver a mezclar. Dejar en reposo 5 minutos y filtrar centrifugar.
- 2) Colocar en tubos de Folin-Wu:
  - Blanco = 1 ml de agua
  - Patrón = 1 ml del patrón diluido
  - Problema = 1 ml del filtrado
- 3) Añadir 1 ml del reactivo de cobre a cada tubo y mezclar.
- 4) Colocar los tubos en un baño de agua hirviendo durante 6 minutos; pasado este tiempo, y sin sacar los tubos del baño, agregar a los mismos 1 ml del reactivo de ácido fosfomolibdico, y dejarlos aún en el baño de agua hirviendo, durante 2 minutos.
- 5) Transferir los tubos a un baño de agua fría (agua del tubo). Cuando se ha enfriado su contenido diluir la señal del 12.5 ml con agua y mezclar por inversión.
- 6) Leer las absorciones del blanco, patrón y problema, frente a agua a 420 mμ.

Cálculos:

$$\text{mg de glucosa } \% = \frac{A_x - A_b}{A_p - A_b} \times 100$$

*Microtécnica para sangre capilar, suero o plasma*

- 1) Añadir 0.2 ml de la muestra a 1.6 ml de agua destilada; mezclar, añadir 0.2 de  $ZnSO_4$  a 10%, mezclar y añadir 0.2 de NaOH al 0.5 N, mezclar otra vez y dejar en reposo por 5 minutos. Centrifugar.
- 2) Colocar en tubos de Folin-Wu:  
Blanco = 1 ml de agua  
Patrón = 1 ml del patrón diluido de glucosa (0.1 mg de glucosa).  
Problema = 1 ml del líquido sobrenadante de la centrifugación.
- 3) Agregar 1 ml del reactivo de cobre a cada tubo y mezclar.
- 4) Sumergir los tubos en un baño de agua hirviendo durante 6 minutos. Pasado este tiempo, sacar los tubos del baño de agua y agregar inmediatamente a los mismos 1 ml del reactivo de ácido fosfomolibdico; volver de nuevo a colocar los tubos en el baño de agua durante 2 minutos más.
- 5) Transferir luego los tubos a un baño de agua fría (agua del tubo). Cuando se ha enfriado diluir la señal 12.5 ml con agua; mezclar por inversión.
- 6) Leer las absorciones del blanco, problema y patrón, frente a agua, a 420 mu o con un filtro cuya longitud de onda se halle en esta región.

Cálculos: idénticos a la macroversión.

*Notas*

Henry (8) ha observado que cuando se utilizan 0.1 ml de sangre se obtienen colores ligeramente más bajos con las muestras problema en tanto que los colores son idénticos para los patrones. No observó tal efecto cuando se preparó un filtrado a base de sulfato de Zinc en  $Ba(OH)_2$ . Si la concentración calculada es superior a 450 mg/100 ml, en cualquier de las dos versiones, se repetirá el análisis utilizando una dilución al doble del filtrado. El color de la reacción es estable durante 15 minutos, y luego aumenta lentamente, de forma que al cabo de 2 horas el incremento del color es aproximadamente, del 10%. La reacción de color sigue la ley de Beer hasta una concentración de 450 mg/100 ml a 420 mu. Mayor exactitud ha sido obtenida al usarse agua destilada en vez del "blanco" usual para establecer el cero, tal y como se expresa en la fórmula para los cálculos, ya que se ha encontrado que el color del blanco no es tan reproducible como el color obtenido con los patrones estándares (24).

La glucosa desaparece poco a poco de la sangre durante la conservación de ésta, a causa de la glicólisis. Dado que ésta es, una reacción enzimática, su velocidad disminuye con la temperatura. A 37°C la pérdida es aproximadamente de 10-20 mg/100 ml/hora, a temperatura ambiente de 5-10 mg y a 4°C de 1 a 3 mg/100 ml/hora. La estabilidad del suero y del plasma es mayor que la de la sangre total; los filtrados desproteinizados son mucho más estables (8).

## RESULTADOS

En el cuadro 1 se señalan las cifras promedio, las desviaciones estandar, los valores margen y los límites de confianza de los valores de glucosa verdadera de acuerdo con los 3 tipos de muestras utilizadas.

Cuadro 1

Glucosa	Promedio — x	Desvia- ción estándar	Valores margen		Límites de con- fianza para el promedio (al 95%)		Tamaño de la muestra
			P <sub>2.5</sub>	P <sub>97.5</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	
sangre venosa	77.3	9.9	58	96	76.6	78.0	699
sangre capilar	80.6	12.2	56	105	79.7	81.5	650
suero	86.3	17.2	58	114	85.1	88.5	431

En relación con el cuadro son pertinentes dos aclaraciones: En primer lugar, los valores margen incluyen el 95% de los casos de la muestra aproximadamente. Del 5% de casos que no están incluidos, hay un 2.5% que son menores que el percentil 2.5 (P<sub>2.5</sub>) y un 2.5% mayores que el percentil 2.5% (P<sub>97.5</sub>). Por ejemplo, en la glucosa de la sangre capilar, un 95% de los valores de la muestra están entre 56 y 105; un 2.5% son menores que 56 y un 2.5% mayores que 105.

En segundo término, los límites de confianza para el promedio significan, por ejemplo, para el caso de la sangre capilar, lo siguiente: si los 650 casos analizados se consideran una muestra de una población, entonces tendríamos bastante seguridad (confianza del 95%) de que el promedio de esa población no será menor de 79.7 ni mayor de 81.5. Esos límites son muy estrechos en la tabla debido en parte a que el tamaño de la muestra es bastante grande.

Por otra parte, como los límites de confianza para los diferentes tipos de sangre no se entrecruzan (es decir, L<sub>2</sub> para sangre total es más pequeño que L<sub>1</sub> para sangre capilar; y L<sub>2</sub> para sangre capilar es más pequeño que L<sub>1</sub> para suero), eso implica que las respectivas poblaciones tienen promedios significativamente diferentes entre sí. Pero el que una diferencia sea estadísticamente significativa no quiere decir necesariamente que esa diferencia tenga importancia práctica, es decir, que para fines prácticos deba considerarse grande. Así el promedio de sangre capilar es estadísticamente distinto al de sangre total, pero la diferencia en números absolutos (unidades de glucosa) es pequeña.

La comparación del macrométodo con la microversión de ésta técnica es satisfactoria. Las desviaciones en 10 muestras estudiadas fueron tan positivas como negativas y ninguna excedió los 6 mg.

## DISCUSION

La exactitud para el diagnóstico y la eficiencia del tratamiento de la Diabetes Mellitus depende en gran medida de la validez de las estimaciones de los niveles de glucosa sanguínea (16, 17, 18, 19). Cualquier técnica que se pretenda recomendar para un análisis rutinario debe dar resultados que se aproximen al máximo a las concentraciones de glucosa verdadera y, a excepción de los métodos a base de glucosa-oxidasa, no hay duda que la elección debe recaer entre la de Somo-

gyi-Nelson o bien, a la variante de la técnica de Folin-Wu que utiliza un filtrado preparado a base de cinc (Somogyi), este último bastante difundido en nuestro medio gracias a la sugerencia de Mora y Solano (18), y que bien podría llamársele método de "Somogyi modificado" en vista de que así se le ha dado a conocer, a pesar de que reconocamos en Sahyun (20), Lauber y Mattice (11), Monsethal y Barry (16), y Henry (8), a quienes lo han preconizado y perfeccionado.

Las cantidades frecuentemente elevadas, muy variables e imprevisibles, de sustancias reductoras y que no son propiamente glucosa (sacaroides), pero que se incluyen como tal en el método clásico de Folin-Wu provocan serios errores analíticos y de interpretación que pueden evitarse si se recurre a métodos en los que se dosifica la verdadera glucosa de la sangre (1, 2, 9, 16, 19, 25). Por lo tanto, la técnica de Folin-Wu debe abandonarse, adoptándose un método fácil y exacto que como el de Somogyi modificado que aquí encomiamos, cambia simplemente la forma de preparar el filtrado desproteinizado en lugar de sustituir totalmente el método de los autores citados.

Los valores de glucosa en sangre total en ayuno, en adultos normales, se encuentran entre 80 y 120 mg% cuando aquella se mide por el método de Folin-Wu (25) y de 60 a 95 mg% cuando lo es por el método de Somogyi-Nelson (7,19).

En la literatura se observa un rango de valores normales para suero o plasma más altos de 95 a 140 mg% y de 70 a 115 mg%, para aquellos métodos, respectivamente (2,9). Cuando los filtrados libres de proteínas se preparan a base de plasma o suero la concentración de glucosa por ambos métodos son comparables. Es interesante observar cómo los valores de glucosa en sangre total determinados por el método obsoleto de Folin-Wu son aproximadamente iguales a los niveles plasmáticos cuando aquella se determina por los que miden glucosa verdadera.

Con el incremento actual del uso de la automatización, no sólo se pueden determinar diferentes componentes sanguíneos a una misma muestra, sino que el material que se utiliza es suero o plasma más que sangre total. En vista de las diferencias en la concentración de agua entre células sanguíneas y el plasma, la concentración de muchas sustancias, y entre ellas la glucosa, no es la misma en plasma que en sangre total (3). La glucosa difunde libremente entre el plasma y los eritrocitos, y está a la misma concentración en el agua intraeritrocitaria que en el agua del plasma. Sin embargo, los eritrocitos tienen un contenido de agua de aproximadamente 72 g/100 ml, en tanto que el contenido de la misma en plasma o suero es cerca de los 94 g/100 ml (8). La disminución del contenido en glucosa, por esa causa, tiende a equilibrarse con la mayor concentración de "sacaroides", cuando se efectúa la determinación de la glucosa mediante métodos inespecíficos. Pese a todo es evidente que los resultados de la glucosa verdadera en muestras de sangre total estarán en relación inversa con el hematocrito, parámetro que no tiene nada que ver con el metabolismo de la glucosa del individuo (8). Como resultado de un más bajo contenido de agua de los eritrocitos, los valores de glucosa en suero y plasma son de un 10 a 15% más altos que en sangre total (2,5,8,13). En vista de los resultados variables asociados con diferencias en los valores de hematocrito en el sistema multifásico de la sangre y, como el plasma es el medio de transporte, pareciera deseable determinar los niveles de glucosa en suero o plasma, pero esta deducción no ha sido del todo aceptada (8).

Con base en el autoanalizador, McDonald et al. (14) han encontrado una relación lineal entre la glucosa plasmática y de sangre total que se expresa así:  $P = 6,6 + 1.15 T$  y  $T = 5.7 + 0.87 P$ ; donde P es la concentración de

glucosa en el plasma y T en sangre total. Estas ecuaciones son precisas y útiles para varios propósitos, ya que pueden ser usadas para la conversión de los valores de glucemia de plasma a valores en sangre total y viceversa. A propósito, el método para la glucosa que generalmente se suele utilizar en el autoanalizador se basa en la reacción del ferricianuro, la cual para algunos ofrece valores de "glucosa verdadera". Sin embargo, con base en una técnica a base de glucosa-oxidasa, se han logrado como promedio unos resultados un 7% superiores a los conseguidos con la técnica automatizada (23).

En vista de que la glucosa es tomada de la sangre por los tejidos, hay un gradiente entre la concentración de glucosa arterial y la de sangre venosa. La sangre capilar puede ser aceptada como un equivalente de la sangre arterial (3). Este gradiente varía ampliamente aun en una misma persona. En estado de ayuno y de reposo es insignificante (3, 4, 8, 10, 16, 19), pero en períodos postprandiales, o como sucede en las pruebas estándar de tolerancia a la glucosa, el gradiente se hace evidente y vemos así cómo en una persona normal en tal condición de consumo de glucosa, puede haber tanto como una diferencia de 30 a 80 mg%, entre sangre capilar y venosa (10, 12, 16).

Las muestras de sangre utilizadas en las pruebas de tolerancia a la glucosa son generalmente de procedencia venosa. Ocasionalmente cuando la punción venosa es difícil, por ejemplo en niños muy pequeños, parece aconsejable utilizar sangre capilar.

Ya hemos comentado que la concentración de glucosa en sangre capilar y venosa es esencialmente la misma si el sujeto está en ayunas, citándose como máximo de diferencia de 2-10 mg% a favor de la sangre capilar (3). Esto sin embargo, no ocurre durante las primeras horas después del consumo de glucosa, aunque ambas cifras vuelven de nuevo a ser casi iguales cuando se alcanzan las concentraciones normales o hipoglicémicas (4,8).

A pesar entonces de que la mayoría de los autores han llegado a la conclusión que es más exacto utilizar sangre venosa para la construcción de las curvas de tolerancia a la glucosa (10, 15, 16, 17, 21), parece probable que cuando se disponga de criterios correctos para la interpretación de los resultados en la sangre capilar se pueda conseguir para ese procedimiento información tan útil como la derivada de los datos de sangre venosa (4). Al respecto, se señala que para pruebas de tolerancia a la glucosa en las que se utiliza sangre capilar, los límites máximos normales (12) para adultos serían 110 mg% en ayuno, 180 a la hora, 140 a las 2 horas, 120 a las 3 horas y 110 a las 4 horas. Para niños, 110, 160, 140, 120 y 110 mg% respectivamente. Cole y Bilder (4) en niños, señalan 88, 160, 149, 133, 130 y 105 mg% a las 3 horas. Para la interpretación de las pruebas de tolerancia a la glucosa basadas en el uso de sangre venosa, y para glucosa verdadera, recomendamos la lectura del trabajo de Mora (17).

Henry (8) señala límites normales, para el adulto en ayunas, de glucosa en sangre total venosa, sangre total capilar, suero y plasma con el método que utilizamos, de 60-100, 60-100, y 70-110 mg/100 ml, respectivamente. Monsenthal y Barry (16) obtienen como límite superior de la normalidad, partiendo de sangre total y utilizando para el análisis la técnica de Folin-Wu sobre un filtrado a base de Cinc, el valor de 100 mg/100 ml. Como puede observarse, nuestros resultados son estrechamente concordantes con aquellos que se han reportado para glucosa verdadera por los métodos o modificaciones que fueren, para sangre total venosa, suero o plasma y sangre capilar.

Creemos eso sí que la interpretación de los hallazgos aquí consignados debe hacerse a la luz de los detalles estadísticos planteados en la sección de re-

sultados. Es asimismo magnífica la correlación de los presentes hallazgos con lo encontrado por Mora y Solano (18) en población normal asegurada del país, mencionándose de paso, el dato obtenido por los autores nacionales antecitados en cuanto a que la glucemia normal prospanial a las 2 horas luego de 100 g de glucosa, y por el método en referencia, oscila entre 50 y 100 mg%. Finalmente, concluimos con Reinhold (19) en que no existe diferencia de la glucemia entre ambos sexos, los límites son para los niños idénticos a los que hemos dado para los adultos, si bien los valores medios son algo mayores en ancianos.

#### RESUMEN :

Se hace un ligero comentario sobre las técnicas que miden glicemia verdadera, preconizándose el método de "Somogyi modificado", por su bajo costo, facilidad, exactitud y reproductibilidad. Se discuten las diferencias arterio-venosas de la glucosa sanguínea y se señalan valores margen normales en sangre venosa, arterial y suero de 58-96, 56-105 y 58-114 mg%, respectivamente, que coinciden estrechamente con lo reportado en la literatura extranjera y nacional.

#### SUMMARY :

A brief comment on the techniques that measure true glucemia is made. Because of its low cost, exactness and reproductibility, the modified Somogyi test is recommended. The artero-venous blood glucose differences are discussed and normal marginal values for venous and arterial blood, and serum are established at 58-96, 56-105 and 58-114 mg%, respectively, which coincide with figures reported in the literature.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1.—BALTER, A. M., Y EFRON, H. Y.  
Blood Saccharoid Content in Neuropsychiatric Patients. *Diabetes*, 14(11):791-723. 1965.
- 2.—BAUER, J. D., P. G. ACKERMAN, Y G. TORO.  
Bray's Clinical Laboratory Methods. 7 th. Ed., VIII + 764 pp. C. V. Mosby Co., Saint Louis, U.S.A. 1968.  
Bioquímica. 4ª Ed. Español. XVI + 874 pp. Edit. Interamericana, S. A., México. 1969.
- 3.—CANTAROW, A., Y SCHEPARTZ, B.
- 4.—COLE, H. S., Y BILDER, JOAN H.  
Capillary Blood Sugar Values in Infants and Children During Oral Glucose Tolerance Tests. *Diabetes*, 19(3):176-181. 1970.
- 5.—FALES, F. W.  
Glucosa (Enzimático). Cap. X, 129-145 pp. en: Seligson, D., Métodos Seleccionados de Análisis Clínicos, Vol. IV., XVII + 335 pp. Aguilar, Madrid. 1966.
- 6.—FOLIN, O. Y WU, H.  
A simplified and improved method for determination of sugar. *J. Biol. Chem.*, 41:367-374. 1920.
- 7.—GRUNHAUS, G.  
Determinación de los Valores de Glucemia Verdadera por el Método de Somogyi y Nelson en Población Universitaria de Costa Rica. Consideraciones sobre el uso de la tolbutamida en el diagnóstico de la Diabetes Mellitus. Trabajo de Tesis de grado realizado en el Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. 1967.

- 8.—HENRY, R. J.  
Química Clínica. Principios y Técnicas. Tomo II, XIX + 1.341 pp. Edit. Jims, Barcelona. 1968.
- 9.—KULGEMASS, L. N.  
Biochemistry of Blood in Health and Disease, IX + 543 pp. Charles C. Thomas, Illinois. 1959.
- 10.—LANGNER, P. H., Y FIES, H. L.  
Capillary-Venous Differences in Blood Glucose Values During the One-Hour, Two-Dose Glucose Tolerance Test (Exton-Rose Procedure). *Am. J. Clin. Path.*, 12:95-102. 1942.
- 11.—LAUBER, FRANCES V., Y MATTICE, MARJORIE.  
Microdetermination of Blood Glucose. *J. Lab. Clin. Med.*, 29:113-116. 1944.
- 12.—LYNCH, M. J. RAPHAEL, S. S., MELLOR, L. O., SPARE, P. D., Y INWOOD, M. J. H.  
Medical Laboratory Technology and Clinical Pathology. 2ª Ed. XI + 1359 pp., J. B. Saunders Co., Pha., U.S.A. 1969.
- 13.—MARTINEK, R. G.  
Rapid Micro Estimation of Glucose in Biologic Fluids with a Stable Glucose Oxidase System. *J. Am. Med. Technol.*, 29(3):257-265. 1967.
- 14.—MCDONALD, G. W., FISCHER, G. F., Y BURHAM, C. E. (Cit. en 2).
- 15.—MCDONALD, G. W. FISCHER, G. F., Y BURHAM, C.  
Reproducibility of the Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes*, 14(8):473-480. 1965.
- 16.—MONSENTHAL, H. O., Y BARRY, EILEEN.  
Evaluation of blood sugar test: significance of the non-glucose reducing substances and the arterio-venous blood sugar difference. *Am. J. Dig., Dis.*, 13(5):160-167. 1946.
- 17.—MORA, E.  
Utilidad, Indicaciones e Interpretación de la Curva de Tolerancia a la Glucosa en la Diabetes Mellitus. *Acta Médica Cost.*, 11(3)239-246. 1968.
- 18.—MORA, E., Y SOLANO, L. E.  
Diabetes Mellitus y sus Métodos de estudio. Información de laboratorio Clínico N° 16, Caja Costarricense de Seguro Social. 1969.
- 19.—REINHOLD, J. G.  
Glucosa. Cap. XI, 94-102 pp.; en: Reiner, Miriam, Métodos Seleccionados de Análisis Clínicos, Vol. I, XVIII + 206 pp. Aguilar, Madrid. 1961.
- 20.—SAHYUM, M. (Citado en 24).
- 21.—SISK, C. H. W., BURHAM, C. E., STEWARD, J. Y MCDONALD, G. W.  
Comparison of the 50 and 100 Grams Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes*, 19(11):852-862. 1970.
- 22.—SOMOGYI, M. Y NELSON, N. (Citado en 19).
- 23.—SUNDERMAN, E. W. JR., Y SUNDERMAN, F. W.  
Measurement of Glucose in Blood, Serum and Plasma by means of a glucose oxidase-Catalase Enzyme System. *Am. J. Clin. Path.*, 36(1):75-91. 1961.
- 24.—TONKS, D. B.  
An Improved Technic for blood glucose by the Folin-Wu method *Am. J. Clin. Path.*, 22:1009. 1952.
- 25.—YOUNG, N. F.  
Glucosa. Cap. X., 87-93 pp.; en: Reiner, Miriam, Métodos Seleccionados de Análisis Clínicos, Vol. I, XVIII + 206 pp. Aguilar, Madrid.