



CESAR DAVILA SAA

X
LA FOTOMETRIA DE LLAMA Y SUS
APLICACIONES A LA BIOQUIMICA
HUMANA (*)

(*) Trabajo presentado en el VIII Congreso Latinoamericano de Química, realizado en Buenos Aires del 16 al 22 de Septiembre de 1962.

FUNDAMENTOS DE LA FOTOMETRIA DE LLAMA:

Cuando los elementos Sodio, Potasio y Litio son quemados en una llama, confieren a ésta un color característico: amarillo para el primero, violeta para el segundo y rojo carmín para el tercero.

La intensidad del color es una medida de la concentración de un elemento conforme va quemándose éste en la llama.

La luz coloreada que se obtiene en la llama por la presencia de estos elementos es convertida en energía eléctrica y medida en una escala.

DESCRIPCION Y FUNCIONAMIENTO DEL FOTOMETRO DE LLAMA MODELO KY—1 DE LA CASA "BAIRD ATOMIC"

Básicamente el papel de este instrumento es:

- 1) Convertir en vapor una solución que contiene varios elementos.
- 2) Introducir el vapor en la llama, consiguiendo que éste se quemé y produzca colores indicativos de los elementos contenidos aquí.
- 3) Separar estos colores y registrar solamente uno de ellos.
- 4) Proveer el medio por el cual la intensidad de este color seleccionado puede ser medida.

Tales funciones son logradas en este instrumento por medio de un Atomizador, un Quemador de gas, un Filtro Optico especial para Litio, Sodio y Potasio; un Tubo Fotomultiplicador para cada uno de estos elementos; un Amplificador Electrónico y un Registrador para centrar en cero. Véanse Clisés Nos. 1 y 2.

CLISE N° 1

GAS
REGULATOR

CHAMBER
MOUNTING
CLIP

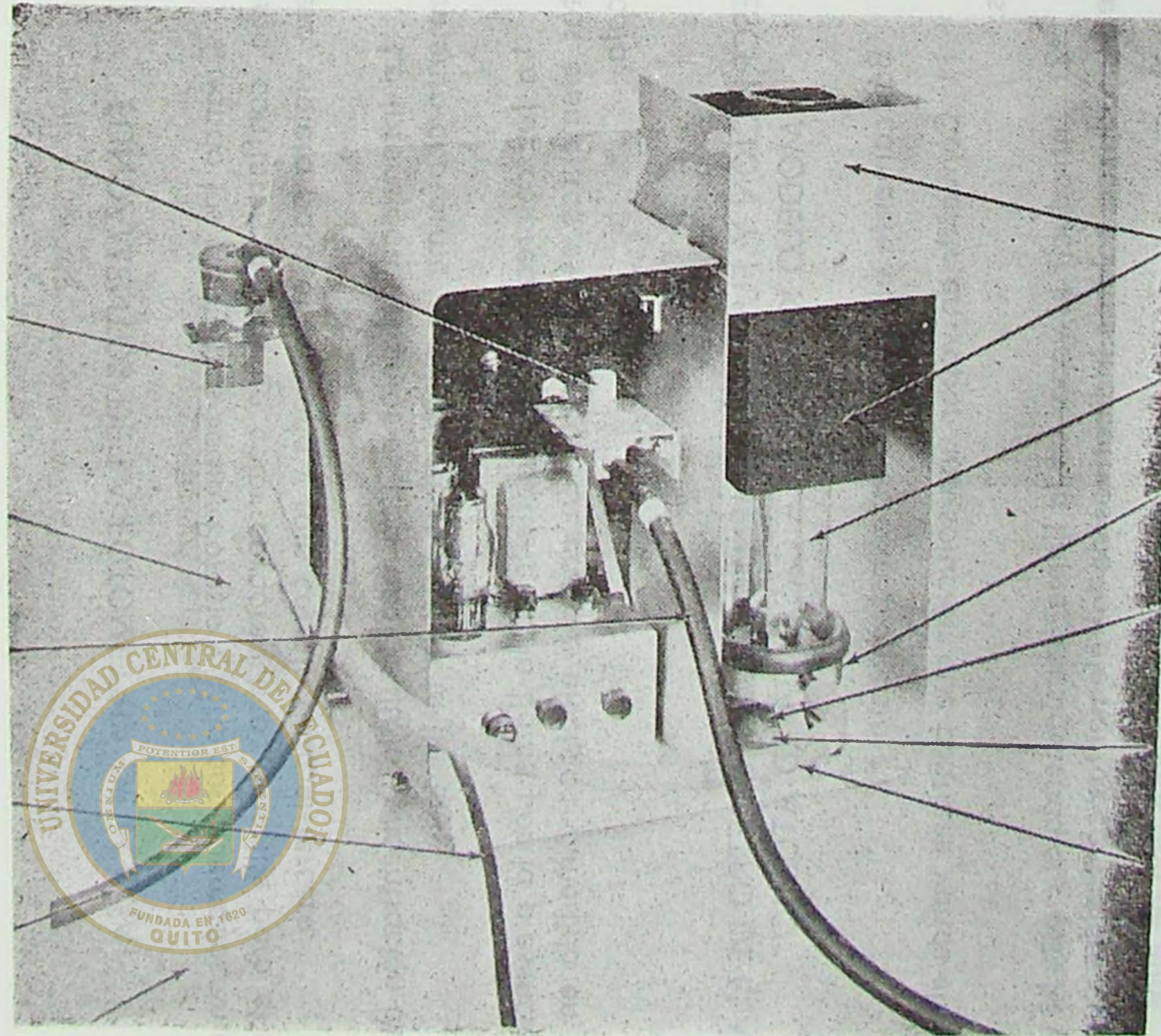
CHAMBER
U—TUBE

GAS HOSE

LINE CORD

AIR HOSE

DRAIN HOSE



REFLECTOR

CHIMNEY

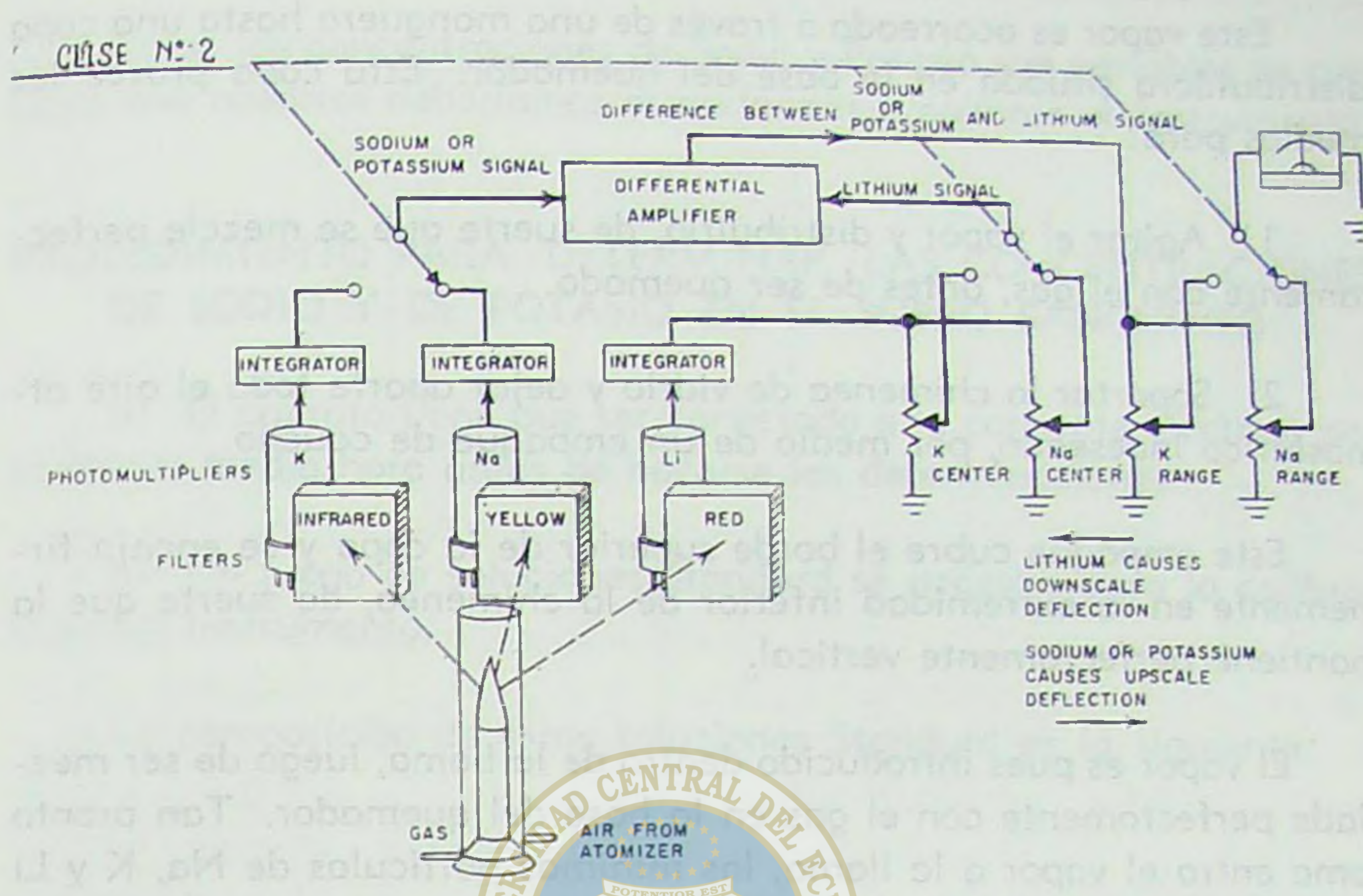
VAPOR CUP

ORIFICE NEEDLE
VALVE

BURNER BASE

VAPOR HOSE

REAR VIEW SHOWING HOSE CONNECTIONS



La conversión de la solución en vapor es cumplida por el uso de un sistema atomizador especialmente diseñado y patentado por esta Casa.

Este sistema atomizador sellado para el aire, con una cubierta de cristal que le aísla del medio externo, consta de un Atomizador que usa una combinación de alimentación por gravedad y una corriente de aire.

El líquido para ser atomizado es vertido en un recipiente a manera de embudo y la alimentación por gravedad se hace en un tubo capilar y al entrar en juego la corriente de aire, se vaporiza el líquido en el interior de la cámara de vidrio.

Para introducir este vapor dentro del quemador de gas interviene la segunda sección del sistema atomizador sellado para el aire: una cámara especial ha sido construída para este objeto con un tubo en U que se extiende desde la base de la cámara. El tubo en U se llena con agua y sirve para un doble propósito: es utilizado como un DREN a través del cual el líquido más pesado que el vapor es evacuado; en segundo lugar, él forma un bloque a través del cual la única salida dejada para el vapor es conectada con una manguera por medio de la cual se dirige el vapor desde el interior de la cámara de vidrio hasta la base del quemador de gas.

Este vapor es acarreado a través de una manguera hasta una copa distribuidora situada en la base del quemador. Esta copa provee los medios para:

- 1) Agitar el vapor y distribuirlo, de suerte que se mezcle perfectamente con el gas, antes de ser quemado.

- 2) Soportar la chimenea de vidrio y dejar aparte todo el aire atmosférico indeseado, por medio de un empaque de caucho.

Este empaque cubre el borde superior de la copa y se encaja firmemente en la extremidad inferior de la chimenea, de suerte que la mantiene perfectamente vertical.

El vapor es pues introducido dentro de la llama, luego de ser mezclado perfectamente con el gas en la base del quemador. Tan pronto como entra el vapor a la llama, las mínimas partículas de Na, K y Li son quemadas y hacen que la llama se vuelva coloreada. La llama mantiene ahora el color amarillo del Sodio, violeta del Potasio y rojo carmín del Litio.

Aquí es cuando los filtros especiales entran en juego. Estos filtros están dispuestos en el instrumento de tal manera que cualquier luz emitida por la llama debería pasar por ellos antes de actuar en los tubos fotomultiplicadores. Los tubos fotomultiplicadores responden a la emisión de la luz transmitida a través de los filtros y esta señal, en forma de corriente eléctrica, es transmitida de los tubos fotomultiplicadores a un amplificador diseñado especialmente.

Cada uno de los tres tubos fotomultiplicadores transmite su señal a un canal separado: uno para el Sodio, otro para el Potasio y un tercero para el Litio. Estas tres señales son integradas en el amplificador y registradas en el cuadrante.

El amplificador actúa semejándose mucho a un puente de Wheatstone en el cual la señal proveniente del Litio se registra como una de las ramas del puente y permanece constante debido a una concentración constante del Litio que es utilizada en todos los Standards y muestras.

La otra rama del puente está representada, sea por el canal del Sodio, o por el canal del Potasio, según sea seleccionada por un botón especial que se encuentra en el tablero frontal.

Como las concentraciones de Sodio y Potasio son variables es con éstas que nosotros deberíamos estandarizar y calibrar el Instrumento.

PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LAS CONCENTRACIONES DE SODIO Y DE POTASIO EN EL SUERO SANGUINEO:

- a) El aparato tiene que ser conectado a la corriente eléctrica por lo menos media hora antes de hacerse las determinaciones.
- b) Un juego de soluciones Standard se necesita para la calibración del Instrumento.

La composición de estas soluciones Standard es la siguiente:



TABLE A—1. PREPARATION OF BS STANDARDS AND BLOOD SERUM SAMPLES (1:200 DILUTION)

Solutions Needed		Na Stock (50 meq/l)	K Dilution (5 meq/l)	Serum	Li (5000 ppm)	K Stock (20 meq/l)	Size of volumetric flask (fill to mark fith H ₂ O)
	K (5 meq/l)					2.5 ml.	10 ml
	120/1	6 ml	0.5 ml		25 ml		500
	140/5	7	2.5		25		500
	160/9	8	4.5		25		500
	To prepare serum samples for sera in range 100 — 180 meq/l of sodium			0.05 ml	0.5 ml		10 ml
				0.25	2.5		50
0.50				5.0		100	

TABLE A—2.
ACTUAL CONCENTRATIONS
IN BS STANDARDS

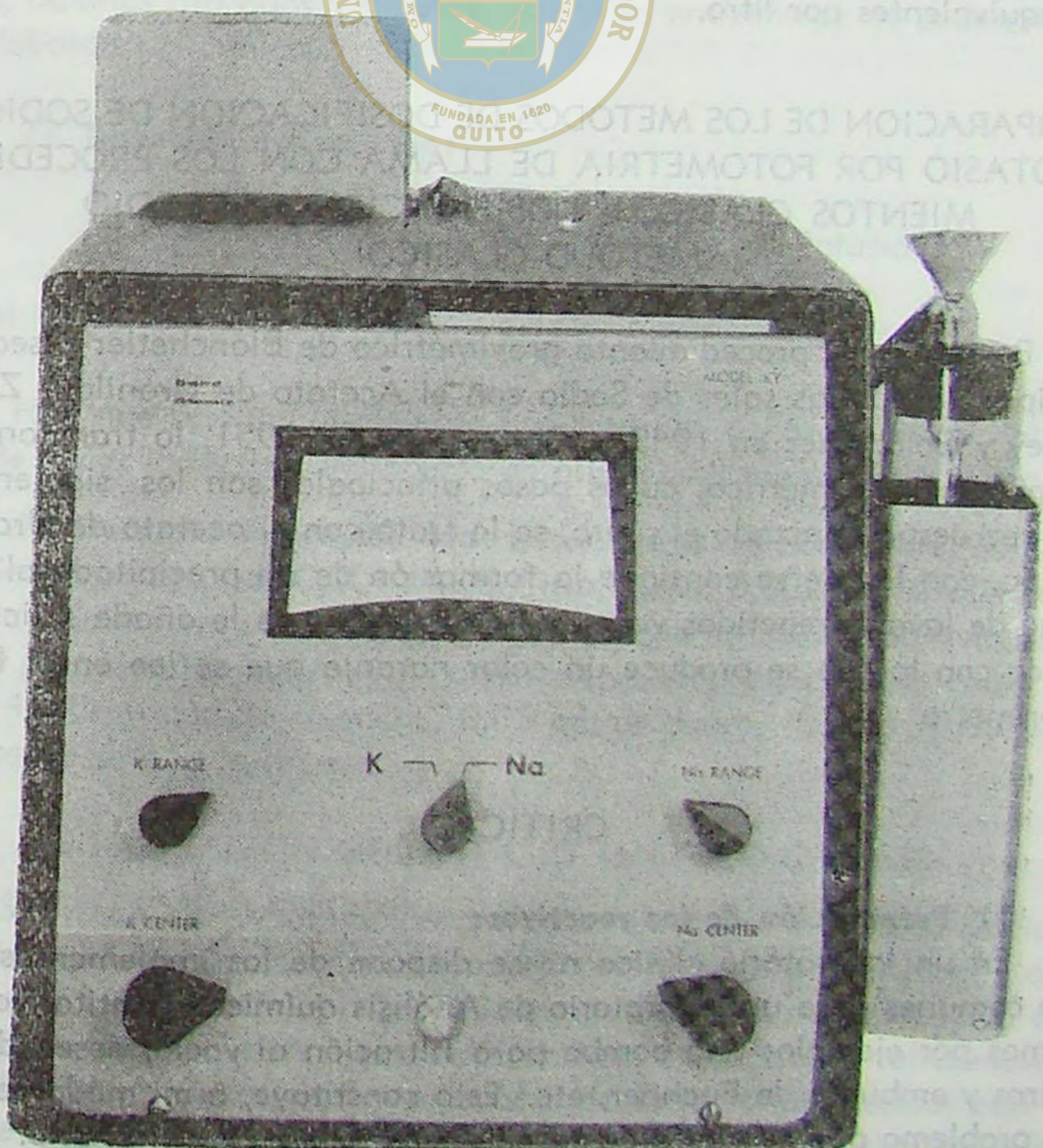
	Na	K	Li
120/1	0.6	0.005 meq/l	250 ppm
140/5	0.7	0.025	250
160/9	0.8	0.045	250

La muestra de suero para hacer la determinación se prepara de la siguiente manera: se toman 0,05 ml. de suero sanguíneo, obtenido por centrifugación de la sangre sin anticoagulante; luego se agrega 0,5 ml. de la solución de Litio y se afora con agua destilada a 10 ml. Se mezcla por agitación y se continúa con los pasos siguientes:

c) Se abre la llave del gas (se utiliza una mezcla de Propano y Butano).

d) Quince minutos antes de efectuar la lectura debe encenderse el mechero de gas, graduando convenientemente la altura de la llama.

e) Verter la solución Standard 140/5 en el embudo, poner el switch selector en la posición K y a justar el botón **K center** hasta que la aguja marque 5 en la escala inferior. Poner el switch selector en la posición Na y ajustar el botón **Na center** hasta que la aguja marque 140 en la escala superior. (Véase abajo, Clisé N° 4).



f) Verter la solución Standard 160/9 en el embudo. Aguardar 30 segundos. Poner el switch selector en la posición K y ajustar el botón **K range** hasta obtener la lectura 9 en la escala inferior.

Poner el switch selector en la posición Na y ajustar el botón **Na range** de control hasta obtener la señal 160 en la escala superior.

g) La solución Standard 120/1 se vierte en el embudo.

Si las soluciones Standard han sido preparadas debidamente deben registrarse las lecturas: 1 para el Potasio y 120 para el Sodio en sus respectivas escalas.

h) Introducir una muestra de suero preparada convenientemente como se indica en b) en el embudo teniendo el switch selector en la posición K y se obtiene la lectura de la concentración de Potasio en el suero sanguíneo, expresada directamente en Miliequivalentes por litro. Con el switch selector en la posición Na se obtendrá asimismo la concentración de Sodio en la muestra de suero, expresada directamente en miliequivalentes por litro.

COMPARACION DE LOS METODOS DE DOSIFICACION DE SODIO Y POTASIO POR FOTOMETRIA DE LLAMA CON LOS PROCEDIMIENTOS CLASICOS: DOSIFICACION DEL SODIO (METODO CLASICO)

Basado en el procedimiento gravimétrico de Blanchetier o sea, la precipitación de las sales de Sodio con el Acetato de Uranilo y Zinc; Stoney y Goldzieher en 1949, y Butterworth en 1951, lo transforman en método colorimétrico, cuyos pasos principales son los siguientes: una vez desproteinizado el suero, se lo trata con el acetato de Uranilo y Zinc, con lo que se consigue la formación de un precipitado al que luego de lavarle repetidas veces se lo disuelve y se le añade salicilato sódico con lo que se produce un color naranja que se lee en el foto-colorímetro.

CRITICAS

1) **Preparación de los reactivos:**

En un laboratorio clínico no se dispone de los implementos que son comunes para un laboratorio de Análisis químico cuantitativo, digamos por ejemplo: una bomba para filtración al vacío, desecadores, filtros y embudos de Buchner, etc. Esto constituye, a mi modo de ver, un problema que el laboratorista no puede resolverlo por sí solo.

2) **Duración del proceso:**

10 minutos (precipitación)

30 „ (reposo)

15 „ (lavado, decantación, disolución, lectura y cálculos).

—

Total: 55 minutos.

3) Garantía de sensibilidad del método: del 2 al 4%

4) Cantidad de muestra necesaria: 1/2 cc. de suero.

DOSIFICACION DEL SODIO EN EL FOTOMETRO DE LLAMA

1) **Reactivos:** Las soluciones para calibración del aparato se preparan una vez al año, y cada 6 u 8 semanas se hacen las diluciones standard nuevas; lo único que se necesita es una balanza de precisión, balones aforados y pipetas, que sí se encuentran de ordinario en un laboratorio clínico.

2) **Duración del proceso:**

10 minutos de calibración del aparato.

5 minutos de lectura simultánea con el Potasio.

—

Total: 15 minutos.

Hay que anotar igualmente que una vez calibrado el aparato se puede hacer la lectura inmediata de numerosas muestras de suero.

3) **Garantía de sensibilidad:** Las lecturas del Sodio en el Fotómetro tienen un error de 0,001 m.e.q./litro, o sea: 0,002 mg. % que equivale a 0,02 partes por millón. O sea algo que tanto para investigación como para resultados clínicos corrientes se acepta perfectamente.

4) Cantidad de muestra: 0,05 cc. de suero, lo que equivale a menos de una gota gruesa.

DOSIFICACION DEL POTASIO (METODO CLASICO)

Se funda en la formación del complejo cobaltinitrito de Sodio y Potasio, apreciable cuantitativamente por método gravimétrico; asimismo Jacobs y Hoffmann en 1931 propusieron una modificación colorimétrica que consiste en esencia en hacer reaccionar el complejo con clorhidrato de colina en presencia de ferrocianuro sódico, con lo que se desarrolla un color verde que se lo valora cuantitativamente en el colorímetro.

CRITICAS

1) Dificultades en tener todo el material de laboratorio disponible para hacer los reactivos. Pérdida considerable de tiempo en preparar y valorar los mismos.

2) **Duración de la técnica:**

- 45 minutos (precipitación y reposo)
- 30 " (centrifugación y lavado)
- 10 " (disolución del precipitado en baño maría)
- 10 " (reacción final, lectura y cálculos).

—
Total: 95 minutos.

3) Garantía de sensibilidad del método: 3%.

4) Cantidad de muestra necesaria: 1 cc. de suero.

DOSIFICACION DE POTASIO EN EL FOTOMETRO DE LLAMA

1) **Reactivos:** igual que para el Sodio.

2) **Duración del proceso y cantidad de muestra:** se hace la determinación simultánea con el Sodio, de suerte que no necesita utilizar más suero ni gastar más tiempo.

3) **Garantía de sensibilidad:** La valoración cuantitativa del Potasio en el fotómetro de llama tiene el error mínimo de 0,0025 m.e.q./litro, o sea: 0,001 mg.%, equivalente a 0,01 partes por millón.

CONCLUSIONES

Las ventajas del método fotométrico en la determinación de Na y K del suero sanguíneo, frente a las técnicas clásicas, son claras e indiscutibles. Se comprenderá el valor enorme que esto entraña para el Clínico que exige siempre y con mucha razón, para orientar su conducta terapéutica, que se le den los resultados precisos e inmediatos.

BASES BIOQUIMICAS Y FISIOLÓGICAS DE LA HOMEOSTASIS.

IMPORTANCIA DE LA DOSIFICACION DE ELECTROLITOS:

SODIO Y POTASIO EN EL SUERO SANGUINEO

Todos sabemos el rol preponderante que ejerce en el organismo humano el Equilibrio Acido-Básico. Teóricamente la suma de equivalentes ácidos deberá ser igual a la de las bases, como lo demuestra Gamble en el cuadro siguiente:

DISTRIBUCION DE CATIONES Y ANIONES (Electrolitos) EN EL PLASMA, EXPRESADOS EN TERMINOS DE MILIEQUIVALENTES POR LITRO. Según GAMBLE

CATIONES	mEq/litro	ANIONES	mEq/litro
Na.	142	HCO ₃	27
K.	5	Cl.	103
Ca.	5	HPO ₄	2
Mg.	3	SO ₄	1
		Acidos orgánicos	6
		Proteínas	16
	155		155

Cuando este sistema bioquímico relativamente complejo se mantiene dentro de los límites normales, lo que correspondería a un organismo sano, decimos que éste mantiene su HOMEOSTASIS, o expresado de otro modo: es un sistema en estado de equilibrio dinámico constituido por un organismo viviente en su medio normal.

Esta homeostasis o equilibrio vital está guardado celosamente por algunos órganos, que a pesar de ocupar sitios muy diversos en el cuerpo humano, mantienen entre ellos un sincronismo extraordinario.

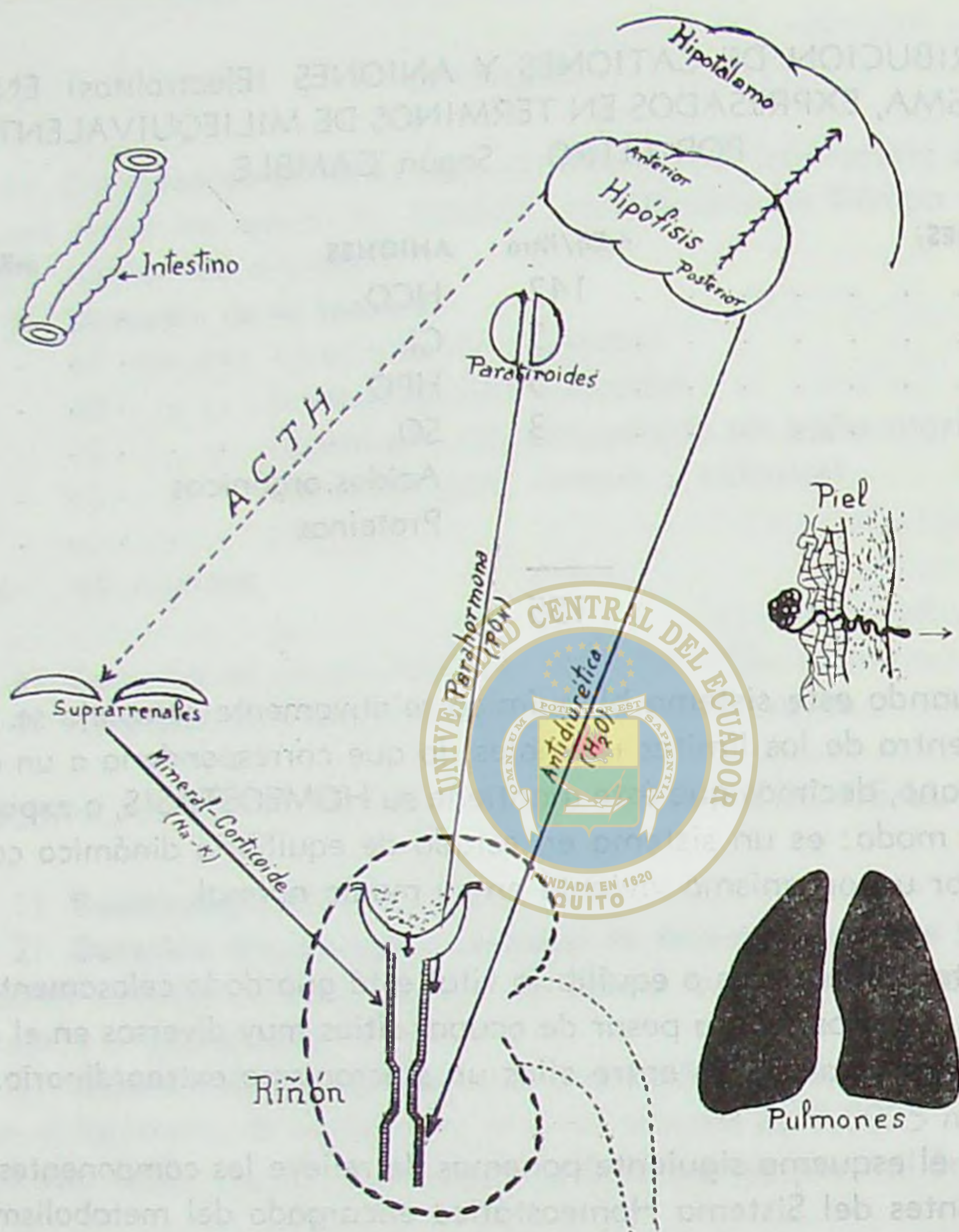
En el esquema siguiente ponemos de relieve los componentes más importantes del Sistema Homeostático encargado del metabolismo de ácidos y bases, y naturalmente del agua que es medio vital en donde actúan los electrolitos.

El mecanismo renal regula el contenido de agua y electrolitos de los líquidos corporales, lo que consigue mediante cambios en el volumen, composición y concentración de la orina.

Las glándulas de secreción interna ejercen su acción a través de las hormonas, particularmente las de la hipófisis y las suprarrenales, corrigiendo la excreción o retención de Sodio, Potasio y agua.

Los pulmones mantienen en sus límites normales el pH sanguíneo, mediante ajustes que tienden a conservar o excretar CO₂.

El intestino y la piel contribuyen al equilibrio hidromineral, facilitando la eliminación en cantidades mínimas de sodio y agua.



En resumen: todos estos factores influyen de modo decisivo para mantener el equilibrio hidroelectrolítico y acuoso, compatibles con un organismo sano.

Cuando falla este mecanismo, en cualquiera de sus partes, lo cual naturalmente se debe a condiciones patológicas graves, se altera la Homeostasis, se rompe el equilibrio, y se originan alteraciones más o menos acentuadas que modifican las propiedades, la concentración y la composición electrolítica del plasma, lo que se traduce en los diversos estadios de la enfermedad.

Ponernos a hablar del rol desempeñado por cada uno de los electrolitos mencionados en el cuadro de Gamble, cuyo valor no desestimamos en ningún momento, sería esfuerzo inútil, puesto que no disponemos de tiempo para ello, y nos referiremos de modo exclusivo a la importancia de la determinación cuantitativa de Sodio y Potasio, por dos razones: La primera, porque queremos ser consecuentes con el

enunciado de nuestro Tema, o sea, la introducción del Fotómetro de Llama, como un auxiliar precioso para el Bioquímico y para el Clínico, más aún si tomamos en cuenta que con este aparato obtenemos todos y cada uno de los iones Sodio y Potasio, libres, combinados, disociados e indisociados.

La segunda, que se acopla muy bien con la anterior es que los iones monovalentes: Na, K, Cl y CO_3H , constituyen más del 90% del total de electrolitos del plasma sanguíneo y de otros líquidos extracelulares, y la sola determinación de las bases Na y K, representa de por sí la medida más simple para una estimación aceptable, dentro del aspecto clínico, de la Electrolitemia normal o patológica. Baste citar para reforzar nuestra tesis, el hecho de que las soluciones de corrección que utiliza el médico con fines terapéuticos, se basan esencialmente en la combinación adecuada de los electrolitos: HCO_3 , Cl, Na y K, dando atención preferente a estos dos últimos.

PARTE EXPERIMENTAL

El primer trabajo realizado con nuestro Fotómetro lo iniciamos justamente hace dos años (Septiembre de 1960), fue motivo de la Tesis Doctoral de la Doctora en Bioquímica, Srta. Amalia González, y consistió en determinar las cifras normales de Electrolitos Na y K en el suero de 200 de nuestros niños, cuya edad fluctuaba de pocos meses a 12 años, y que al ser examinados por un clínico presentaban buenas condiciones de salud.

Los resultados los consignamos en el cuadro siguiente:

NIÑOS (0 — 12 años) :

LIMITES DE NORMALIDAD:

Na = 135 a 146 m.e.q./litro

K = 4,1 a 5,4 m.e.q./litro

NIÑAS (0 — 12 años) :

LIMITES DE NORMALIDAD:

Na = 135 a 146 m.e.q./litro

K = 4,1 a 5,5 m.e.q./litro

MEDIA TOTAL

NIÑOS DE AMBOS SEXOS (0 a 12 años) :

Na = 140,8 m.e.q./litro

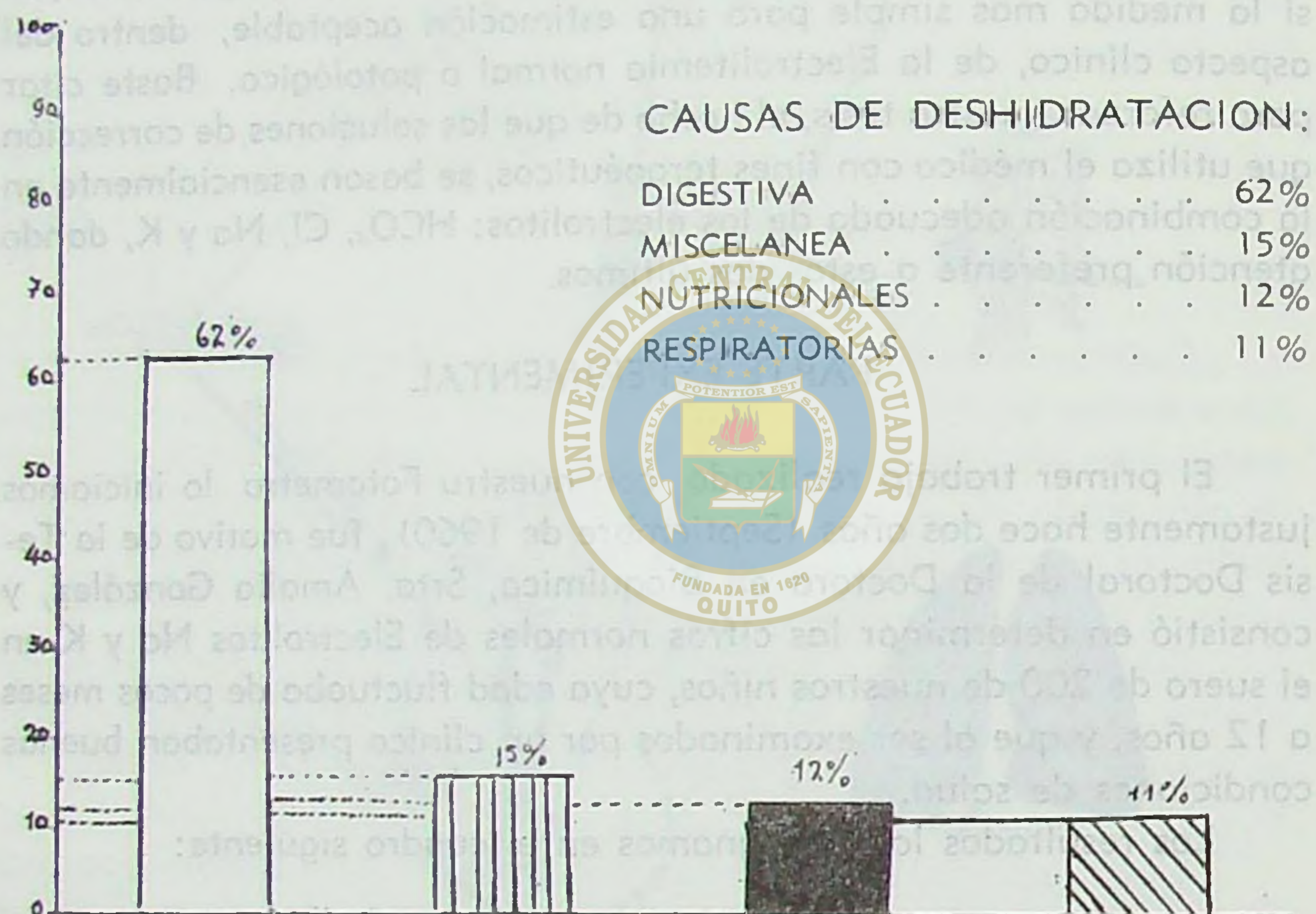
K = 4,8 m.e.q./litro

Establecidas estas bases se comenzó de inmediato el trabajo sobre "Los desequilibrios electrolíticos en las deshidrataciones agudas de la

infancia" que fue el tema para el doctorado, escogido por los Doctores en Medicina, Srta. Elsa González y Sr. Olmeda Villavicencio.

La determinación de Electrolitos, tanto en la tesis anterior, como en la presente, los hizo el autor de este trabajo. El asesoramiento clínico estuvo a cargo del distinguido Pediatra, Dr. Miguel Angel Bayas Valle.

Los comentarios los haremos asimismo teniendo al frente los correspondientes gráficos.



Teniendo estos cuadros a la vista hacemos las siguientes consideraciones:

1) En el Ecuador, al igual que en muchos otros países de la América Latina, la deshidratación infantil, ocasionada por causas diversas, destacándose de manera especial las que se relacionan con el aparato digestivo, constituye uno de los problems más agudos para las Instituciones de salud pública.

Destacamos como hecho sobresaliente en nuestro País, que en el Hospital de Niños "Baca Ortiz", de Quito, a donde concurren alrededor de 300 niños para consulta externa u hospitalización, más de un 70% de ellos, sufren trastornos que directa o indirectamente se relacionan con la deshidratación.

2) A los 100 niños, motivo de esta casuística, se los realizó, tan pronto como ingresaban al Hospital, los siguientes exámenes: biometría hemática, Dosificación de los siguientes electrolitos: Na, K, Ca,

Cl y CO₂, sacándose como conclusión que las variaciones más frecuentes fueron las relacionadas con Sodio, Potasio y Bicarbonato.

Efectivamente: analizando los resultados de las determinaciones de los Electrolitos Na y K en los 100 casos estudiados, hallamos lo siguiente:

- DEFICIT PARA EL SODIO: 60 CASOS, O SEA: EL 60%.
- EXCESO PARA EL SODIO: 20 CASOS, O SEA: EL 20%.
- DEFICIT PARA EL POTASIO: 59 CASOS, O SEA: EL 59%.
- EXCESO PARA EL POTASIO: 12 CASOS, O SEA: EL 12%.

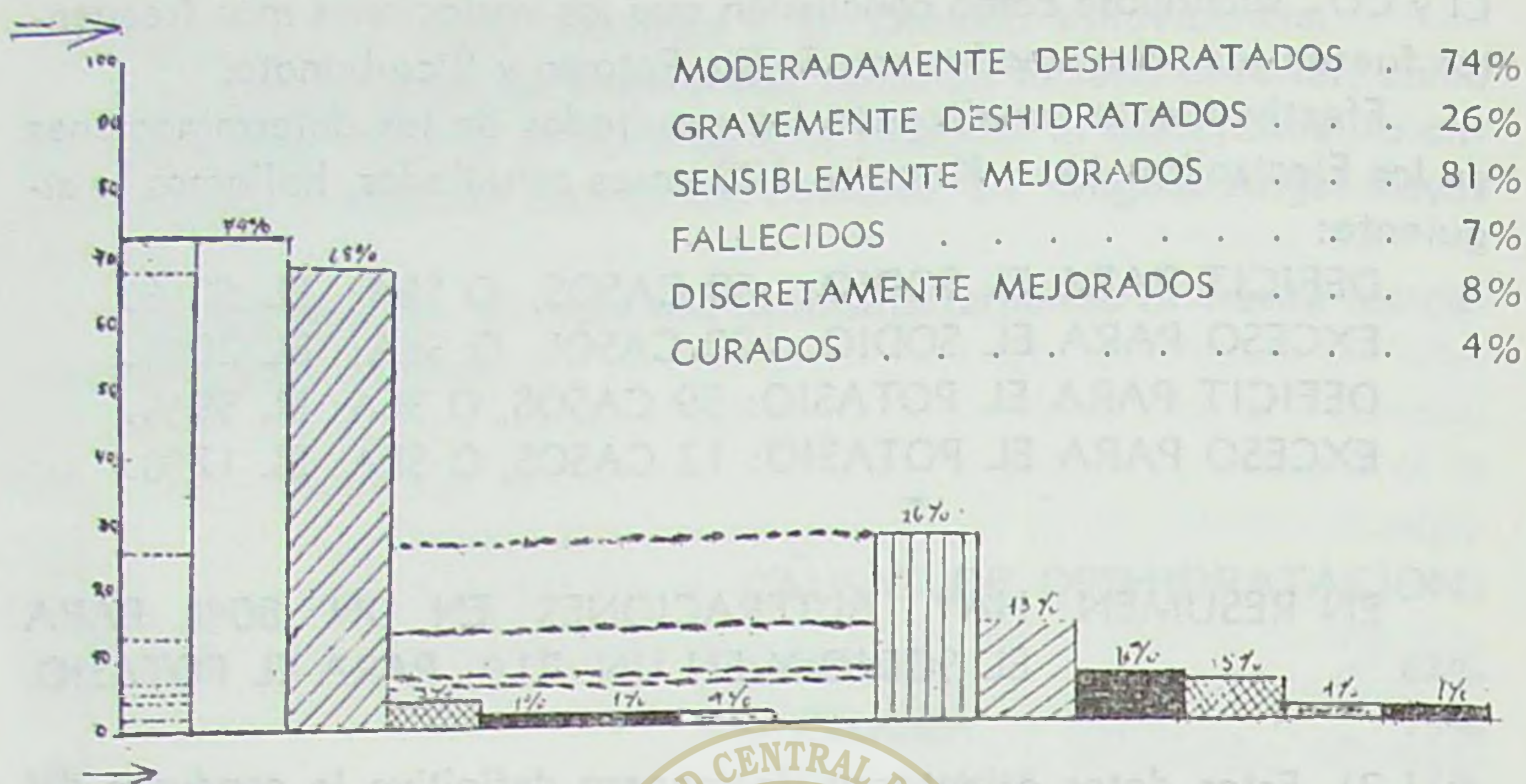
EN RESUMEN: HAY ALTERACIONES EN UN 80% PARA EL SODIO Y EN UN 71% PARA EL POTASIO.

3) Estos datos orientaron de manera definitiva la conducta del Clínico, que en las soluciones terapéuticas puso en juego las concentraciones apropiadas de los electrolitos mencionados, relacionándoles con las alteraciones más o menos acentuadas, puestas en claro por el Laboratorio, como lo demuestra el cuadro siguiente:

COMPUESTO	COMPOSICION		Concentración en mili-equivalentes por ampolla		Ca ++	
	Sal	Gm.	Na +	K +	Cl	HCO ³ (equivalente)
ELECTROSOL - B "Mezcla inicial" de Butler	Cloruro de sodio	2,19	37,5		37,5	
	Lactato de sodio	1,43	12,5			12,5
			50,0		37,5	12,5
ELECTROSOL - D (Solución Darrow)	Cloruro de sodio	1,98	34,0		34,0	
	Cloruro de potasio	1,30		17,5	17,5	
	Lactato de sodio	2,97	26,5			26,5
			60,5	17,5	51,5	26,5
ELECTROSOL - K (Solución Potásica)	Cloruro de potasio	2,98		40	40	

Las soluciones terapéuticas fueron preparadas por los LABORATORIOS "LIFE".

4) Los resultados fueron ciertamente halagadores, pues el Director del Hospital de Niños "Baca Ortiz", Dr. Luis A. Lalama, afirma categóricamente, que desde la instalación del Centro de Hidratación el índice de mortalidad infantil ha disminuído en un 80%.



Entusiasmados por este resultado positivo de nuestra modesta labor de investigación, hemos emprendido en la realización de otros trabajos, prestando nuestra ayuda a los jóvenes egresados de Medicina o Bioquímica, que se han interesado vivamente por los siguientes temas:

"CONTROL ELECTROLITICO DE SODIO Y POTASIO EN LAS INSUFICIENCIAS CARDIACAS CONGESTIVAS". Motivo de Tesis del Sr. David Bonilla.

"DETERMINACIONES DE ELECTROLITOS EN QUEMADURAS DE DIVERSO GRADO". Sr. Walter Balmes.

"ESTUDIO DE LA FUNCION SUPRARRENAL POR EL TEST DE THORN EN LA DESHIDRATACION INFANTIL. ALTERACIONES ELECTROLITICAS CONCOMITANTES". Sr. Néstor Gómez.

Todos estos trabajos están en marcha, y por lo mismo no podemos sentar las conclusiones; pero en el fondo sentimos una enorme complacencia al saber que nuestro Fotómetro nos presta una ayuda invalorable en nuestro afán decidido de colaborar con el Médico para salvar más y más vidas humanas.

Δ

RESUMEN: El Autor inicia su Exposición con un capítulo sobre las teorías en las que se basa la Fotometría de Llana, pasando de inmediato a hacer una descripción gráfica del aparato utilizado en sus trabajos, que es el Modelo Clínico KY—1 de la Casa Americana "Baird Atomic".

Hace una rápida comparación entre los métodos clásicos para dosificación de Sodio y Potasio con los procedimientos fotométricos y realza el valor indiscutible de estos últimos.

La parte experimental inicia asimismo con una breve relación sobre la importancia de los electrolitos en la bioquímica humana y a continuación, en forma resumida, expone las conclusiones de sus propios trabajos, que se refieren principalmente a los temas siguientes:

"Dosificación de Electrolitos en la sangre de niños normales". La casuística alcanza al número de 200 en niños de ambos sexos de la ciudad de Quito, con un estado bueno de salud, y cuya edad fluctúa entre 0 y 12 años.

Establecidas estas bases, se estudia los "Desequilibrios Electrolíticos en niños que sufrieron deshidrataciones agudas" a causa de distintos procesos patológicos como gastro-enteritis, enfermedades respiratorias y nutricionales, quemaduras y otras.

La casuística reporta 100 casos, que luego de ser estudiados se trataron, obteniendo como resultado una baja notable en el índice de mortalidad ;estos trabajos sirvieron como base para la instalación de un centro moderno de hidratación en el Hospital de Niños "Baca Ortiz" de Quito.

Finaliza su exposición indicando que tiene en marcha otros trabajos sobre dosificación de electrolitos, principalmente Sodio y Potasio, en cardiopatías, nefropatías y otras afecciones humanas, aliviando la importancia de estas determinaciones.



BIBLIOGRAFIA

- 1) "Operating Manual For Flame Photometer Model KY—1 "Baird Atomic Inc.
- 2) Tesis Doctoral "Dosificación de Electrolitos Sodio y Potasio en la sangre de niños normales", Srta. Amalia González. Facultad de Ciencias Químicas y Naturales de la Universidad Central de Quito. Año 1961.
- 3) Tesis Doctoral "Desequilibrios electrolíticos en las Deshidrataciones agudas de la infancia", Dres. Olmedo Villavicencio y Elsa González. Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central de Quito. Año 1962.

- 4) Curso de Química Biológica. V. Deulofeu y A. D. Marenzi. 8ª Edición. Editorial "El Ateneo". Buenos Aires. Argentina.
- 5) Fisiología Humana. Bernardo A. Houssay y Colaboradores. 3ª Edición (4ª Reimpresión) Editorial "El Ateneo". Buenos Aires. Argentina.
- 6) Balance Hidro-salino-proteico y Stress. Augusto M. Romero Alvarez. Editado por P. L. Rivero & Cia. S.A.I.C. Buenos Aires - Argentina.
- 7) Síndromes del agua, Electrolitos y Acidos-Básicos. Emanuel Goldberger. Editorial Beta. Buenos Aires. Argentina.
- 8) "Chemical, anatomy, physiology and pathology of extracellular fluid". J.L. Gamble. Cambridge, Massachussetts. Harward University Press. 1950.
- 9) "La Permeabilité des structures biologiques pour l'eau et les électrolites" par F. Morel, J. Maetz et M. Guinnebault. Bulletin d'Informations scientifiques et Techniques". Nº 46. Diciembre 1960.
- 10) Organización del Centro de Hidratación del Hospital de Niños "Baca Ortiz" de Quito. Trabajo presentado en las III Jornadas Pediátricas Ecuatorianas, por los Dres. Luis A. Lalama, Miguel A. Bayas Valle y Luis Felipe Sánchez.
- 11) "Jornal de Pediatría", Organo Oficial de la Sociedad Brasileira de Pediatría. Vol. 24. Enero de 1959. Fascículo Nº 1.
- 12) "Métodos de Análisis Clínicos y su Interpretación Bioquímica" Harold Varley. 2ª Edición. Editorial Tecnos S.A. Madrid.
- 13) Tratado de Pediatría por Fanconi y Wallgren. Ediciones Morata. Madrid.
- 14) Bioquímica de la Enfermedad. Bodansky y Bodansky. Ediciones U.T.E.H.A. México.