

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

Volumen 61 Número Especial Enero–Diciembre 2019

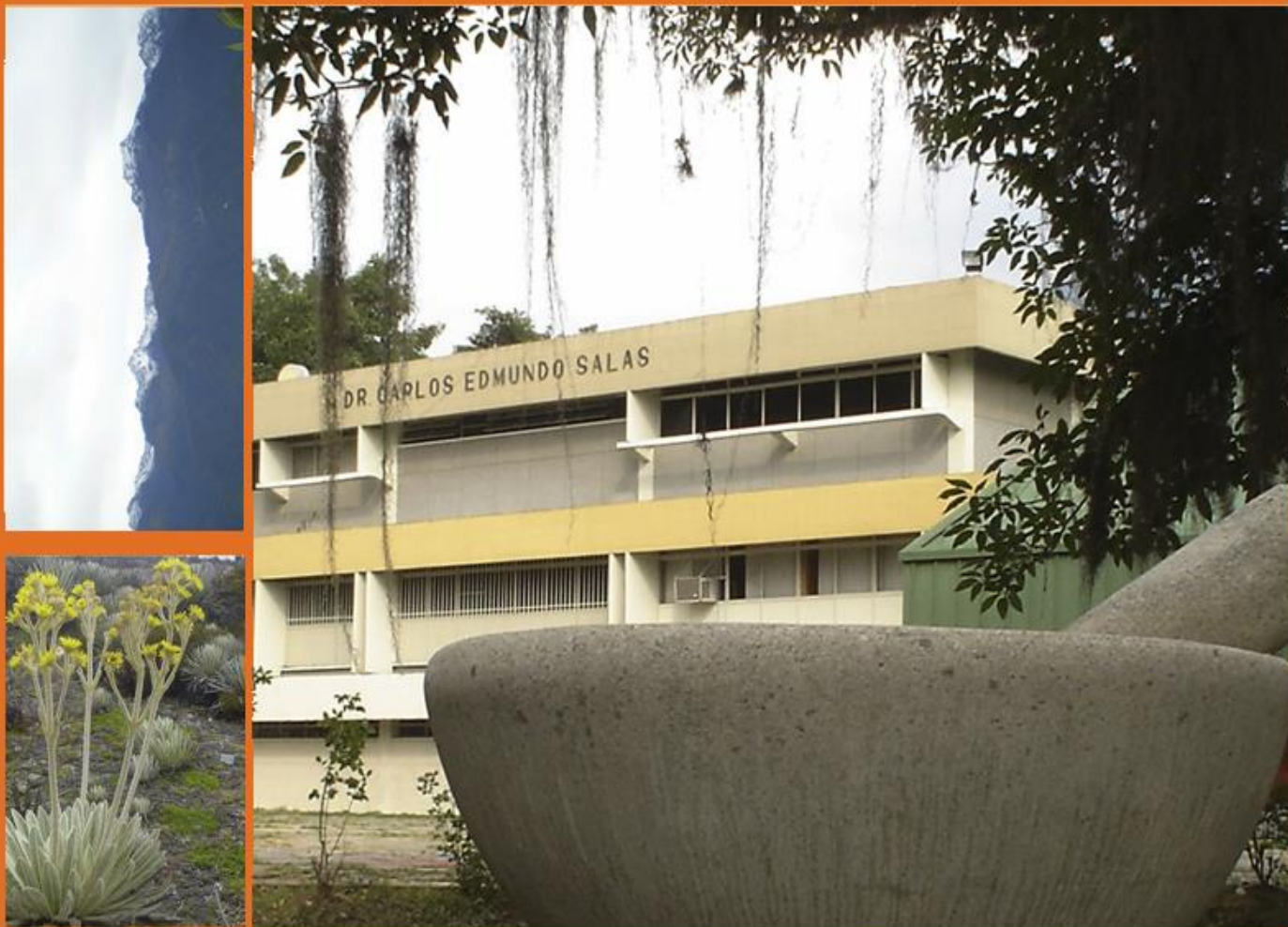
FUNDADA EN 1958

ISSN 0543-517-X

Depósito Legal pp 1958 02 ME 1003

ISSN 2244-8845 Electrónico

Depósito Legal ppi 2012 02 ME 4102



UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES
VENEZUELA



Facultad de Farmacia y Bioanálisis

EDITORIAL

Importancia de la bioestadística en el área clínica

El investigador del área clínica (Farmacia, Bioanálisis, entre otras) por lo general requiere recolectar, organizar y analizar datos para posteriormente elaborar un modelo estadístico que le permita tomar decisiones válidas y cuyos resultados sean estadísticamente significativos, esto es, que los tratamientos aplicados sobre los pacientes muestren el efecto esperado, que los niveles de un factor y las réplicas dentro de cada uno, para experimentos dentro del laboratorio clínico o droguerías, sean los apropiados. Así, basándose en las condiciones experimentales, las decisiones del investigador se fundamentan en el concepto de probabilidad, particularmente, en el conocido como p valor. En este sentido, si su magnitud es casi cero, se puede concluir que existen diferencias estadísticamente significativas en relación con las categorías del fenómeno clínico analizado con respecto al comportamiento medio de la variable dependiente dentro de cada grupo, o de cualquier otro parámetro estadístico de interés clínico. Sin embargo, en otras situaciones se espera que la magnitud de esta probabilidad sea alta (mayor al 5%), por ejemplo, en los estudios de bioequivalencia se espera que no existan diferencias estadísticamente significativas entre un nuevo medicamento y el estándar, ambos bajo la misma composición química. Ahora bien, en algunas situaciones clínicas la decisión estadística basada en una probabilidad puede ser contraria a la decisión clínica que se desea tomar, lo que puede deberse a diferentes causas como un tamaño de muestra o réplicas incorrectas, no hubo seguimiento a las unidades experimentales o el modelo aplicado no era el apropiado. Por consiguiente, el investigador clínico y el estadístico deben trabajar a la par desde el inicio del proceso de investigación, de tal manera que a futuro se garanticen los mejores resultados y decisiones con base en los modelos estadísticos correctos

Prof. Jesús Peña
Departamento de Análisis y Control Facultad de
Farmacia y Bioanálisis Universidad de Los Andes

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

Vol. 61 (Número Especial)

Enero-Diciembre 2019

ISSN 0543- 517-X Depósito Legal pp 1958 02 ME 1003

ISSN 2244-8845 Electrónico Depósito Legal ppi 2012 02

ME 4102

CONTENIDO

ARTÍCULOS ORIGINALES

Análisis de supervivencia con interacción de diabetes e índice de masa corporal en pacientes en diálisis peritoneal.

Survival analysis with interaction between diabetes and body mass index in peritoneal dialysis patients.

Autores: Borges P Rafael Eduardo, Torres-Mantilla Hugo Alexander, González-Villar Andrea.....3

Evolución del error total en la determinación de glucosa en un laboratorio de bioquímica clínica.

Evolution of total error in the determination of glucose in a laboratory of clinical biochemistry.

Autores: Molina Karla, Torres Jeymmy, López María, Hurtado María, Guillen Leidys y Dugarte Freddy. 14

Actividad larvícida de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* contra *Tecia solanivora* Povolny.

Larvicidal activity of *Minthostachys mollis* and *Lepechinia bullata* essential oils against *Tecia solanivora* Povolny

Autores: Ramírez-Mancilla Rosslyn, Mora-Vivas Flor, Domínguez-Guerrero Ilka, Rojas-Fermín Luis, Ramírez-Méndez Wuilson, Peña-Albornoz José, Pérez-Colmenares Alida.....19

Composición química y actividad biológica de los extractos de las partes aéreas de *Leonurus japonicus* (Houtt.).

Chemical composition and biological activity of extracts of aerial parts of *Leonurus japonicus* (Houtt.).

Autores: Malave María José, Mendoza Zulimar, Morillo Marielba, Visbal Tomas, Rondón María Eugenia, Carmona Juan.....25

Normas Editoriales.....36

Reglamento para el arbitraje.....51

Índice acumulado.....53

Artículo original

Análisis de supervivencia con interacción de diabetes e índice de masa corporal en pacientes en diálisis peritoneal.

Survival analysis with interaction between diabetes and body mass index in peritoneal dialysis patients.

Borges P Rafael Eduardo^{1*}, Torres-Mantilla Hugo Alexander², González-Villar Andrea³.

¹Escuela de Estadística, Facultad de Ciencias Económicas y Sociales, Universidad de Los Andes, Mérida, 5101, República Bolivariana de Venezuela.

²Departamento de Matemática-Física, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias, Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia.

³Departamento de Ciencias Básicas y Modelado, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia.

Recibido: julio de 2019 –Aceptado: septiembre de 2019

RESUMEN

Se presenta un análisis de supervivencia para analizar los tiempos de seguimiento de 246 pacientes atendidos en el Servicio de Diálisis Peritoneal del Hospital Clínico Universitario de Caracas, seguidos entre los años 1980 y 1997, utilizando la muerte como evento de interés. El análisis de supervivencia fue efectuado de la manera clásica, incluyendo: (i) estimaciones de las funciones de supervivencia mediante el estimador de Kaplan–Meier para explorar el efecto en los tiempos de vida de los pacientes según el estado de diabetes y el índice de masa corporal (IMC) de los pacientes, (ii) determinación de las diferencias de las funciones de supervivencias mediante el test de logaritmos de los rangos (Log-Rank test), (iii) ajuste de dos modelos semiparamétricos de riesgos proporcionales (modelos de Cox) incluyendo la interacción entre diabetes e IMC, (iv) Selección del mejor modelo, según el criterio de información de Akaike y, (v) verificación de los supuestos del modelo seleccionado. El modelo definitivo resultó estadísticamente significativo (p -valor = 0,000177), no se violan los supuestos del mismo,

y las covariables incluidas en este modelo son edad, IMC y la interacción entre diabetes e IMC, con p -valor iguales a 0,0015; 0,0072 y 0,0391, respectivamente, y los riesgos de muerte, estimados mediante el exponencial de su coeficientes fueron respectivamente 1,03138; 0,90166 y 1,02817. La interpretación de la interacción entre diabetes e IMC permitió ajustar un submodelo de Cox para pacientes no diabéticos en los cuales los exponenciales de los coeficientes para edad e IMC fueron 1,0371 y 0,8632, respectivamente.

PALABRAS CLAVE

Análisis de supervivencia, estimador de Kaplan y Meier, modelo de Cox, diálisis peritoneal, diabetes, índice de masa corporal (IMC).

ABSTRACT

A survival analysis is presented to analyze the follow-up time of 246 patients of the Peritoneal Dialysis Service of the University Clinic Hospital of Caracas, followed between 1980 and 1997, using death as event of interest. The survival analysis was

performed in a classical way, including: (i) estimations of the survival function using the Kaplan-Meier estimator to explore the effect of diabetes and body mass index (BMI) over the lifetime of the patients, (ii) determination of the differences of the survival functions using the Log-Rank test, (iii) the fitting of two proportional hazard semiparametric models (Cox models) including the interaction between diabetes and BMI, (iv) selection of the best model using the Akaike information criteria, and (v) the verification of the assumption of the selected model. The final model was statistical significant (p -value=0.000177), there is no evidence of the violation of the assumption, and the covariables included were age, BMI, and the interaction between diabetes and BMI, with p -values 0.0015, 0.0072, and 0.0391, respectively, with a death hazard, estimated by the exponential of their coefficients 1.03138, 0.90166, and 1.02817, respectively. The interpretation of the interaction plot allowed to adjust a Cox submodel for the non-diabetic patient, and the exponential of the coefficients of this submodel were 1.0371 and 0.8632 for age, and BMI, respectively.

KEY WORDS

Survival analysis, Kaplan-Meier estimator, Cox model, peritoneal dialysis, diabetes, body mass index (BMI).

INTRODUCCIÓN

El índice de masa corporal (IMC) está asociado a un número importante de patologías y afecta la mortalidad de las mismas, tal y como lo sugieren algunos trabajos especializados como el de Aune, *et al.* (2017) [1].

Esta asociación no es ajena en pacientes que reciben diálisis peritoneal, tal y como lo señalan diversos trabajos como el de Liu, *et al.* (2017) [2].

La asociación entre el IMC y la diabetes (*diabetes mellitus*) también ha sido reportada en muchos trabajos, incluyendo algunos llevados a cabo en pacientes que reciben tratamiento a través de diálisis peritoneal, abordados desde la óptica de una simple asociación como los trabajos de Kiran, *et al.* (2014) [3]. Lo (2016) [4] o Nessim (2014) [5],

o a través de la modificación de patrones de mortalidad o supervivencia de los pacientes como los presentados en los trabajos de Mehrotra, *et al.* (2016) [6], Sakaci, *et al.* (2016) [7], Szeto, *et al.* (2014) [8], Salim, *et al.* (2016) [9] o Xiong, *et al.* (2015) [10].

Motivado por los últimos trabajos citados en el párrafo anterior, y por la interacción entre el IMC y la diabetes en la supervivencia reportada en el trabajo de Borges (2005) [11], se procedió a hacer un análisis de supervivencia para los pacientes incluidos en la tesis de maestría de Borges (2002) [12], y analizados nuevamente en el trabajo de Borges (2005) [13], incluyendo en este caso la clasificación del IMC según los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [14].

En este sentido se presenta un análisis de supervivencia usando una metodología clásica similar a la abordada por los principales textos en el área, como por ejemplo el de Klein y Moeschberger (2003) [15] o el de Kleinbaum y Klein (2011) [16], donde se estima la función de supervivencia a través del estimador de Kaplan y Meier (1958) [17] para diversas combinaciones de condición de diabetes e IMC, se estudia las diferencias de las funciones de supervivencia a través de estimador de los logaritmos de los rangos propuesto por Mantel (1966) [18], se ajustan diversos modelos de riesgos proporcionales (modelo de Cox (1972)) [19], incorporando en este trabajo un término de interacción entre diabetes e IMC. Se selecciona el mejor modelo, usando el criterio de información de Akaike (1973) [20], y se efectúa un análisis de residuos siguiendo la metodología propuesta por Therneau y Grambsch (2000) [21] para el modelo seleccionado, con el fin de validar los supuestos del modelo, los cuales están basados en el enfoque del análisis de supervivencia basado en procesos de conteo, propuesto por Aalen (1978) [22] y desarrollados ampliamente en textos como el de Fleming y Harrington (1991) [23] o el de Andersen, *et al.* (1993) [24].

Una vez que se ha verificado la significación del modelo, la significación de los coeficientes de las covariables incluidas en el modelo, y de verificar los supuestos del modelo se procede a interpretar los coeficientes, análisis que se hace a

través del exponencial de los coeficientes estimados.

Uno de los aspectos más importantes de este trabajo es la incorporación de un término de interacción entre diabetes e IMC, tal y como lo sugieren Vatcheva, *et al.* (2015) [25].

Otro aspecto importante es que a través de la interpretación del término de interacción entre diabetes e IMC, se ajustaron dos submodelos de Cox, uno para diabéticos, que resultó no significativo, y otro para pacientes no diabéticos, el cual permite estimar los riesgos de morir por causas asociadas a la diálisis peritoneal de la edad e IMC para este grupo de pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos estudiados: los datos analizados corresponden a 246 pacientes que acudieron al Servicio de Diálisis Peritoneal del Hospital Clínico Universitario de Caracas entre 1980 y 1997. Estos datos ya fueron analizados en trabajos previos, como por ejemplo Borges (2002) [12] y Borges (2005) [13].

Variables incluidas en la base de datos: la base de datos está conformada por las variables: meses (tiempo) de seguimiento desde el comienzo del ingreso al servicio hasta la ocurrencia del evento de interés, que en este caso es la muerte por causas asociadas a la diálisis peritoneal. La no ocurrencia del evento de interés es considerada como un dato censurado. Adicionalmente se incluyen las covariables:

Edad: edad en años del paciente al inicio del seguimiento (ingreso a diálisis peritoneal en el Servicio)

Diabetes: condición de diabético o no diabético (sano):

Quetelet: llamado también Índice de Masa Corporal (IMC), calculado mediante el cociente del peso en kilogramos de un individuo sobre el cuadrado de su estatura en metros.

Creación de los grupos de pesos según su IMC: para efectos de este análisis, se creó una variable auxiliar considerando la clasificación de individuos según lo establecido por la Organización Mundial de la Salud [14]. En este sentido se crearon cuatro grupos de pacientes:

Pacientes de Peso Bajo: corresponde a los individuos con IMC menor a 18,5.

Pacientes con Peso Normal: corresponde a los Individuos con IMC mayor o igual a 18,5 y menor a 25.

Pacientes preobesos: corresponde a los individuos con IMC mayor o igual a 25 y menor a 30.

Pacientes obesos: corresponde a los individuos con IMC mayor o igual a 30.

Es importante destacar que la OMS establece una clasificación más detalladas para los individuos de bajo peso y para los obesos, pero esta clasificación más fina no ha sido considerada en el presente trabajo, debido al número reducido de individuos en estos grupos.

Tratamiento de los datos faltantes: en la base de datos original, se detectó la presencia de algunos datos faltantes para la variable correspondiente a IMC, para efectos de este análisis, estos individuos fueron eliminados previamente a la realización del tratamiento computacional de los mismos.

Análisis estadístico: se efectuó un análisis de supervivencia al estilo clásico, estimando primero las funciones de supervivencia para varias combinaciones de diabetes e IMC, a través del uso del estimado de Kaplan y Meier, se valuó la diferencia de las funciones de supervivencia mediante el test de los logaritmos de los rangos. Posteriormente, se procedió a ajustar diversos modelos de riesgos proporcionales (modelos de Cox), incluyendo la interacción entre diabetes e IMC, y se seleccionó el mejor de los mismos mediante el uso del criterio de información de Akaike. A este modelo, se le evaluó su significación estadística, tanto para el modelo como para los coeficientes estimados. Incluyendo, el análisis de residuos para verificar los supuestos del modelo. Posterior a estos análisis se procedió a interpretar los exponenciales de los coeficientes estimados como estimadores de riesgos (hazard). El nivel de significación en todos los procedimientos se fijó en 5%.

Software utilizado: los datos fueron analizados utilizando funciones versión 2.38 de la librería *survival* [26] del lenguaje de programación R en su versión 3.5.0 [27] usando el ambiente gráfico RStudio en su versión 1.1.447 [28].

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Al analizar las curvas de supervivencia según la condición de diabético o paciente sano (no diabético) para los grupos de personas con pesos bajos o normales, y con sobrepesos (preobesos y obesos) (Fig. 1), se observó que para ambos grupos, la supervivencia en pacientes diabéticos tendió a ser más baja que la de los pacientes sanos, y al analizar los resultados del test de los rangos de los logaritmos, se observó que para el grupo de personas con peso bajo, está la diferencia entre las curvas no resultó significativa (p -valor = 0,0667), mientras que para el grupo de personas con sobrepesos, la diferencia entre las curvas resultó significativa (p -valor = 0,0394).

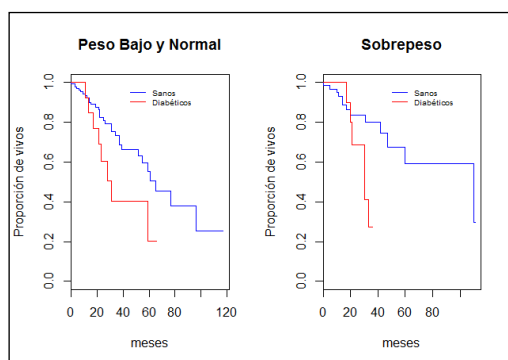


Fig. 1. Funciones de supervivencia estimadas por el estimador de Kaplan y Meier según la condición de diabetes (diabéticos y sanos) para pacientes con peso bajo o normal y pacientes con sobrepeso.

En la Fig. 2 se presenta la comparación de la supervivencia entre pacientes diabéticos y sanos desagregados en cuatro grupos: pacientes de bajo peso, pacientes con peso normal, pacientes preobesos y pacientes obesos. En la misma se observa que para los pacientes con peso bajo, la supervivencia en pacientes sanos tiende a ser menor que la de los diabéticos, mientras que para los otros tres grupos la supervivencia de los diabéticos tiende a ser menor que la de los pacientes sanos. Al estudiar la significación de las diferencias, se observó una diferencia significativa en los grupos de pesos normal (p -valor = 0,0499) y obesos (p -valor = 0,00855), y no existe diferencia significativa en los pacientes de peso bajo (p -valor = 0,274) y preobesos (p -valor = 0,299).

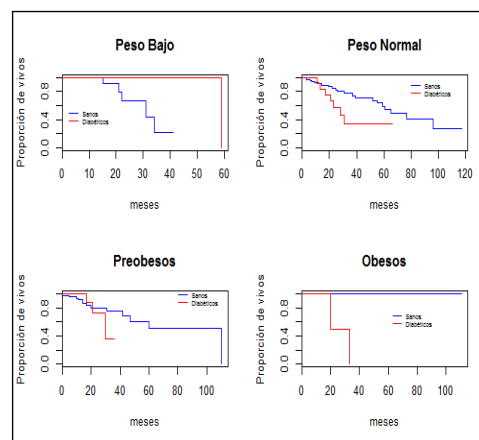


Fig. 2. Funciones de supervivencia estimadas por el estimador de Kaplan y Meier según la condición de diabetes (diabéticos y sanos) para pacientes con peso bajo, peso normal y pacientes preobeso y obeso.

En la Fig. 3 se observan patrones diferentes para las funciones de supervivencias según el peso de los pacientes para todos los pacientes, para los pacientes sanos y diabéticos. En la misma se observa que para todos los pacientes el pronóstico de los pacientes con bajo peso tiende a ser inferior, para los pacientes sanos se observa este mismo comportamiento y que los obesos de este grupo no fallecen, y para los pacientes diabéticos, la supervivencia de los de pesos normales tiende a ser mayor que la del resto de los grupos. Sin embargo, al evaluar el test del logaritmo de los rangos, la diferencia no es estadísticamente significativa para ninguno de los casos representados en la figura (p -valor = 0,368, p -valor = 0,117 y p -valor = 0,855, respectivamente).

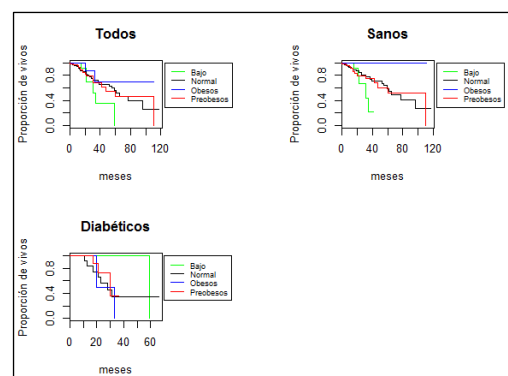


Fig. 3. Funciones de supervivencia estimadas por el estimador de Kaplan y Meier según el peso para todos los pacientes, para pacientes sanos y para diabéticos.

Posteriormente se procedió a ajustar varios modelos de Cox, todos ellos de la forma:

$$\lambda(t, \mathbf{Z}, \boldsymbol{\beta}) = \lambda_0(t) \exp(\mathbf{Z}\boldsymbol{\beta}) \quad (1)$$

Donde:

t es el tiempo asociado a la ocurrencia del evento de interés o a la censura (no observación del evento).

\mathbf{Z} es el vector de covariables incluidas en el modelo.

$\boldsymbol{\beta}$ es el vector de parámetros asociados a las covariables.

$\lambda(t, \mathbf{Z}, \boldsymbol{\beta})$ es la función de riesgo instantáneo.

$\lambda_0(t)$ es la función de riesgo base.

$\exp(\mathbf{Z}\boldsymbol{\beta})$ es una función que depende de la covariables y los parámetros del modelo.

Primer modelo de Cox: para fines comparativos se efectuó el ajuste del mismo modelo de Cox presentado en el artículo de Borges (2005) [13], donde:

$$\exp(\mathbf{Z}\boldsymbol{\beta}) = \beta_1 \text{edad} + \beta_2 \text{diabetes} + \beta_3 \text{IMC} \quad (2)$$

Segundo modelo de Cox: esta es una variante del modelo anterior, al cual se le ha agregado el término de interacción entre diabetes e IMC, es decir:

$$\exp(\mathbf{Z}\boldsymbol{\beta}) = \beta_1 \text{edad} + \beta_2 \text{diabetes} + \beta_3 \text{IMC} + \beta_4 \text{diabetes:IMC} \quad (3)$$

Tercer modelo de Cox (modelo de Cox definitivo): en el modelo anterior, la covariable diabetes resultó no significativa (p -valor = 0,1085), por lo que se decidió ajustar un modelo sin esta covariable, en el cual:

$$\exp(\mathbf{Z}\boldsymbol{\beta}) = \beta_1 \text{edad} + \beta_2 \text{IMC} + \beta_3 \text{diabetes:IMC} \quad (4)$$

Comparación de modelos: la comparación de los modelos se hizo mediante el criterio de información de Akaike (AIC)¹. Para los modelos considerados los AIC fueron 250,10; 248,21 y 249,52; y los insumos para la comparación de los modelos se presentan en la Tabla 1. De acuerdo a la información, se recomienda seleccionar el tercer modelo de Cox.

Significación del modelo seleccionado: para este modelo el test de razón de verosimilitud arrojó un valor de 19,9 con 3 grados de libertad y un p valor igual a 0,000177, con lo que concluimos que el modelo es estadísticamente significativo.

TABLA 1

Comparación de los criterios de información de Akaike del modelo de Cox definitivo.

Modelos comparados	Chi cuadrado	Grados de libertad	p -valor
Modelo 1 y Modelo 2	3,7888	1	0,0516
Modelo 1 y Modelo 3	1,1678	0	$2,2 \times 10^{-16}$
Modelo 2 y Modelo 3	2,621	1	0,1055

Significación de las covariables incluidas en el modelo de Cox definitivo: la Tabla 2 muestra los insumos para la verificación de las covariables incluidas en el modelo seleccionado. En la misma se observa que la inclusión de la edad, el IMC y la interacción entre diabetes e IMC, son significativas, evidenciadas a través de sus p -valores: 0,0015; 0,0072 y 0,0391; respectivamente.

TABLA 2

Medidas resumen del ajuste del modelo de Cox definitivo.

Covariable	Coefficiente (Coef)	Exp (Coef)	p -valor
Edad	0,03089	1,03138	0,0015
IMC	-0,10352	0,90166	0,0072
Interacción (diabetes: IMC)	0,02778	1,02817	0,0391

Análisis de residuos: Para la verificación de los supuestos fundamentales del modelo: Supuestos de riesgos proporcionales, ausencia de individuos incluyentes en el ajuste del modelo, ausencia de individuos influyentes en la estimación de los parámetros asociados a cada covariable y adecuación de la forma funcional de las covariables continuas se usó la metodología propuesta por Therneau y Grambsch (2000) [21].

TABLA 3

Verificación del supuesto de riesgos proporcionales del modelo de Cox definitivo.

Covariable	Rho	Chi cuadrado	p -valor
Edad	0,1114	0,976	0,323
IMC	-0,0521	0,198	0,656
Interacción (diabetes:IMC)	0,0619	0,250	0,617
GLOBAL		1,582	0,664

¹ El AIC equivale al logaritmo de la función de verosimilitud los modelos comparados, y se hace la comparación mediante -2 veces la diferencia de las verosimilitudes de los modelos comparados una distribución

asintótica a través de una distribución Chi cuadrado, medida que se acompaña de su respectivo valor p , que permite contrastar la hipótesis nula de igualdad de los AIC.

Verificación del supuesto de riesgos proporcionales del modelo de Cox definitivo: el supuesto de riesgos proporcionales es el principal supuesto de un modelo de Cox y el mismo puede ser verificado a través de un contraste de hipótesis con una hipótesis nula equivalente a la verificación del supuesto, y cuyos resultados se muestran en la Tabla 3, con la cual se concluye que el supuesto de riesgo proporcional del modelo no es violado por ninguna de las covariables, tanto de manera aislada como de forma conjunta.

Este supuesto también puede ser verificado gráficamente, a través de los gráficos de los Betas de Schoenfeld contra el tiempo de seguimiento, tal y como se presentan en la Fig. 4., en los cuales se corrobora el cumplimiento del supuesto de riesgos proporcionales.

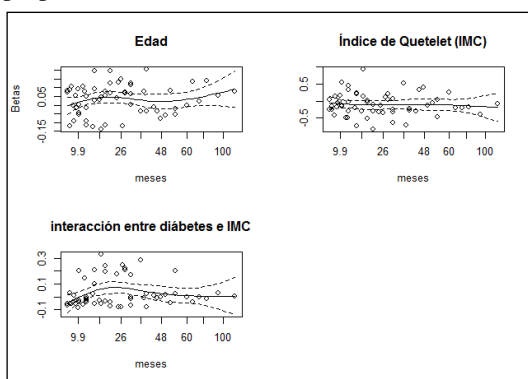


Fig. 4. Gráficos de los Betas de Schoenfeld versus el tiempo de seguimiento del modelo de Cox definitivo

Individuos influyentes sobre el ajuste del modelo: La Fig. 5 muestra el gráfico de los residuos tipo deviance o desvíos versus los individuos participantes en el estudio, y en el mismo no se observa la presencia de valores influyentes sobre el ajuste del modelo de Cox definitivo.

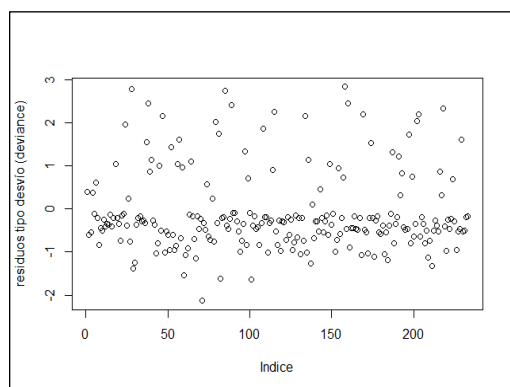


Fig. 5. Residuos tipo deviance versus individuos en el estudio

estudio del modelo de Cox definitivo.

Individuos influyentes sobre la estimación de los parámetros de las covariables: La Fig. 6 muestra los residuos tipo score (puntajes) versus los valores de las covariables. En los mismos se puede observar que solo existe un valor influyente sobre la estimación del coeficiente asociado al IMC, pero al analizar los datos para esta variable, indica que es un valor que no parece alejarse de la población de los datos.

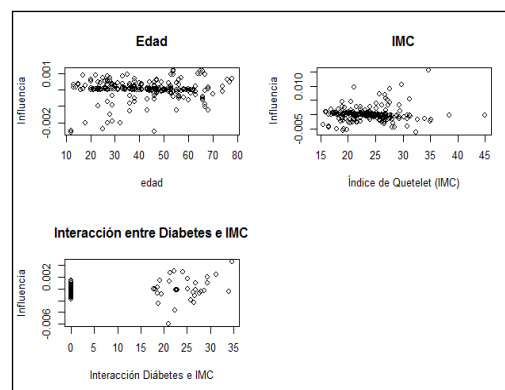


Fig. 6. Residuos tipo score versus valores de las covariables del modelo de Cox definitivo.

Adecuación de la forma funcional de las covariables: La Fig. 7 muestra los residuos tipo martingala versus los valores de las covariables, en ellos se observa que la forma funcional en los cuales están siendo expresados en el modelo son adecuadas para todas las covariables.

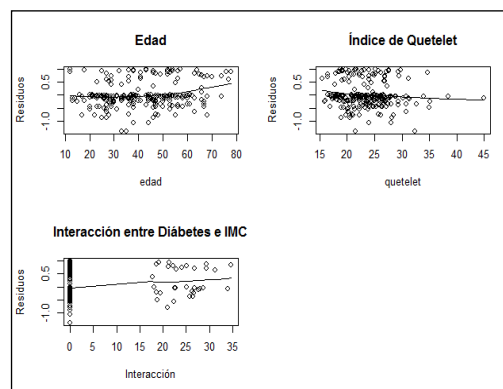


Fig. 7. Residuos tipo martingala versus valores de las covariables del modelo de Cox definitivo.

Interpretación de los coeficientes de las covariables del modelo de Cox definitivo: luego de verificar la significación del modelo, la significación de cada una de la covariables, y de efectuar el análisis de residuos y verificar la no

violación de los supuestos, se procede a la interpretación de los resultados. Para llevar a cabo esta interpretación, se utiliza el exponencial de los coeficientes presentados en la segunda columna de la Tabla 2.

Interpretación del coeficiente para la edad: el exponencial del coeficiente correspondiente a la edad, 0,03138 indica que al aumentar en un año la edad de los pacientes en diálisis peritoneal, el riesgo de muerte por causas asociadas a la misma, aumenta en un 3,14%.

Interpretación del coeficiente para el IMC: el exponencial del coeficiente para el IMC, 0,90166 nos indica que al aumentar el IMC en una unidad, el riesgo de morir por causas asociadas a la diálisis peritoneal disminuye en 9,83%.

Interpretación del término asociado a la interacción entre diabetes e IMC: el exponencial del coeficiente para la interacción entre la diabetes y el IMC, 1,02817, nos indica que el riesgo de morir por causas asociadas a la diálisis peritoneal, aumentan en un 2,82% cuando se comparan los individuos diabéticos con los sanos y de una unidad del IMC menor. Esta interpretación se hace en el estilo del sugerido por Buis (2010) [29]. Adicionalmente, Buis (2012) [30] sugiere que la interpretación del coeficiente asociada a la interacción entre dos covariables, siendo una de ellas categóricas, debe complementarse con el análisis de submodelos para cada valor de la covariable categórica, en este sentido se ajustan un modelo de Cox con las covariables edad e IMC en pacientes diabéticos, y otro modelos con las mismas covariables para pacientes sanos.

Submodelo de Cox para pacientes diabéticos: al ajustar el submodelo de Cox para pacientes diabéticos, incluyendo a edad e IMC como covariables, se observó que el modelo no fue estadísticamente significativo ($p\text{-valor}= 0,449$), razón por la cual no se sigue analizando el mismo.

Submodelo de Cox para pacientes no diabéticos: al efectuar el ajuste del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos incluyendo la edad e IMC como covariables, se observó que este modelo fue estadísticamente significativo ($p\text{-valor}= 0,000494$), y la inclusión de las covariables también resultó significativas ($p\text{-valor} = 0,0010$ y $p\text{-valor}= 0,0019$, respectivamente).

Verificación del supuesto de riesgos proporcionales del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos: el supuesto de riesgos proporcionales es el principal supuesto de un modelo de Cox y el mismo puede ser verificado a través de un contraste de hipótesis con una hipótesis nula equivalente a la verificación del supuesto, y cuyos resultados se muestran en la Tabla 4.

TABLA 4

Verificación del supuesto de riesgos proporcionales del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos.

Covariable	Rho	Chi cuadrado	$p\text{-valor}$
Edad	0,161	1,385	0,239
IMC	-0,114	0,655	0,418
GLOBAL		1,506	0,471

Con la cual se concluye que el supuesto de riesgo proporcional del modelo no es violado por ninguna de las covariables (edad e IMC), tanto de manera aislada como de forma conjunta.

Supuesto que también puede ser verificado gráficamente, a través de los gráficos de los Betas de Schoenfeld contra el tiempo de seguimiento, tal y como se presentan en la Fig. 8., en los cuales se corrobora el cumplimiento del supuesto de riesgos proporcionales para edad e IMC.

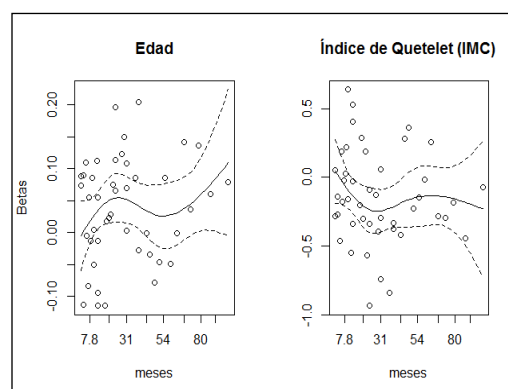


Fig. 8. Gráficos de los Betas de Schoenfeld versus el tiempo de seguimiento del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos.

Individuos influyentes sobre el ajuste del modelo: La Fig. 9 muestra el gráfico de los residuos tipo deviance o desvíos versus los individuos participantes en el estudio, y en el mismo no se observa la presencia de valores influyentes sobre el ajuste del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos.

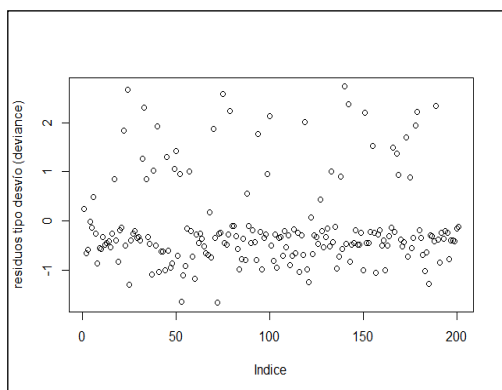


Fig. 9. Residuos tipo deviance versus individuos en el estudio del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos.

Individuos influyentes sobre la estimación de los parámetros de las covariables: La Fig. 10 muestra los residuos tipo score (puntajes) versus los valores de las covariables, y en mismo no hay evidencia de la violación de este supuesto en el submodelo de Cox para pacientes no diabéticos.

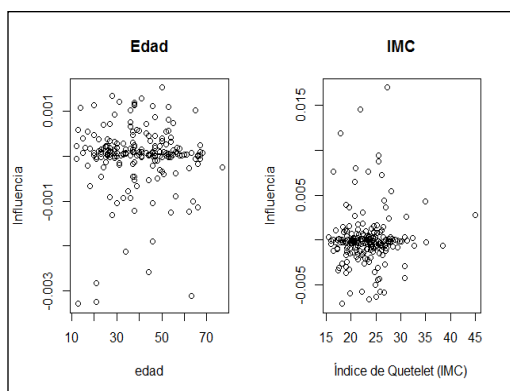


Fig. 10. Residuos tipo score versus valores de las covariables del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos.

Adecuación de la forma funcional de las covariables: La Fig. 11 muestra los residuos tipo martingala versus los valores de las covariables, en ellos se observa que la forma funcional en los cuales están siendo expresados en el submodelo de Cox para pacientes no diabéticos son adecuadas para las covariables edad e IMC.

Interpretación de los coeficientes de las covariables del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos: Luego de verificar la significación del este submodelo y una vez constatada la significación de cada una de las covariables, y de efectuar el análisis de residuos y verificar la no violación de los supuestos, se procedió a la interpretar los exponenciales de los coeficientes estimados incluidos en la Tabla 5.

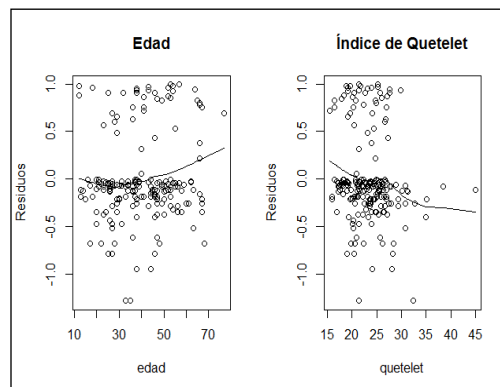


Fig. 11. Residuos tipo martingala versus valores de las covariables del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos.

TABLA 5

Medidas resumen del ajuste del submodelo de Cox para pacientes no diabéticos.

Covariable	Coficiente (Coef)	exp(Coef)	p-valor
Edad	0,0364	1,0371	0,0111
IMC	-0,1471	0,8632	0,0119

En esta tabla se omiten los errores estándar de estimación y los valores del estadístico Z.

Un aspecto importante es que, mediante estos últimos resultados, se estiman los riesgos ajustados para estas covariables para los pacientes no diabéticos. De los mismos se puede observar que, en el grupo de pacientes no diabéticos, al aumentar la edad en un año, la probabilidad de morir por causas asociadas a la diálisis peritoneal aumenta en 3,71 %, y al aumentar el IMC en una unidad, la probabilidad de morir por causas asociadas a la diálisis peritoneal disminuye en 13,68 %.

DISCUSIONES

El aumento del IMC ha sido descrito ampliamente como factor de riesgo en la población general, y también ha sido reportado es un factor de riesgo de progresión a falla renal terminal en pacientes con enfermedad renal crónica. Sin embargo, en pacientes bajo diálisis peritoneal se ha descrito el papel del aumento del BMI como factor protector de mortalidad [31, 32].

Sakaci, *et al.* (2015) [7] en su estudio con 259 personas con diálisis peritoneal describe que las curvas de supervivencia en pacientes en diálisis peritoneal no difieren significativamente comparando grupos de peso normal y alto.

Xiong, *et al.* (2015) [10] en una muestra de 1263 personas en tratamiento con diálisis peritoneal encuentra que en grupo con IMC aumentado existe un mayor riesgo de mortalidad por causas cardiovasculares en comparación con el grupo con IMC normal. En ese trabajo se estima un aumento del riesgo del 9% por cada unidad de IMC muy similar al hallado en el presente estudio. Adicionalmente describen que los pacientes con mayor disminución de peso en el primer año presentaron un mayor riesgo de muerte cardiovascular y por todas las causas siendo esto independiente del estado nutricional previo

Szeto *et al.* (2014) [8] estudiando 329 pacientes bajo diálisis peritoneal no encuentra diferencias significativas entre grupos según la presencia de síndrome metabólico siguiendo cuatro diferentes definiciones (OMS 1998, Federación internacional de Diabetes y Programa nacional de educación sobre el Colesterol original y modificada para población asiática). Sin embargo también documenta un menor riesgo en el subgrupo de pacientes con alto IMC.

En el presente trabajo se encuentra un riesgo mayor significativo de mortalidad por causas atribuibles a la diálisis en pacientes diabéticos comparados con no diabéticos en el subgrupo de pacientes con IMC superior al normal. En contraste en el subgrupo de paciente con IMC inferior al normal existe una tendencia no significativa a un menor riesgo en diabéticos.

Estos hallazgos motivaron estudiar la relación entre las tres variables mediante la introducción de un término interacción entre el IMC y la condición de ser diabético siguiendo las sugerencias del artículo de Vatcheva, *et al.* (2016) [25].

Esto permitió corregir el modelo ajustado anteriormente en el trabajo de Borges (2005) [13], estudiándose el efecto de la interacción entre diabetes e IMC, y corrigiéndose así las estimaciones de los riesgos de muerte asociadas a la diálisis peritoneal.

Tras la introducción del término interacción entre diabetes e IMC y la eliminación posterior del término diabetes aislado por falta de significancia se obtuvo el modelo de Cox final que estima una disminución del riesgo de mortalidad en 9,83% por cada unidad de IMC. Sin embargo estima también un aumento en el riesgo de mortalidad de 2,82% en

diabéticos en comparación con sanos con una unidad de IMC menos. Esto podría implicar que la disminución de riesgo por cada aumento del IMC es notablemente menor en diabéticos en comparación con no diabéticos. Incluso el submodelo de Cox ajustado solo para pacientes diabéticos resultó no ser significativo lo cual podría atribuirse a un insuficiente tamaño de muestra para medir una diferencia de riesgo menor.

El riesgo de mortalidad por tanto parece estar más vinculado con el peso corporal, el cual involucra tanto el exceso de grasa corporal como el exceso de agua (sobre hidratación) que el síndrome metabólico como tal [31]. Los pacientes diabéticos tienden a tener un estado de sobre hidratación mayor que los pacientes no diabéticos al inicio de la terapia dialítica [32] Por lo tanto la medición del IMC como indicador del exceso de grasa corporal en paciente diabéticos podría ser mucho menos fiable. Así, en muchos pacientes diabéticos se espera tengan un IMC sobreestimado de forma variable respecto al IMC “real” sin sobre hidratación limitando de esta manera la estimación del riesgo. En contraste la menor frecuencia de sobre hidratación en pacientes no diabéticos permite una estimación más fiable. En paciente no diabéticos el riesgo estimado de morir se espera disminuya en un 13,68% por cada unidad de IMC adicional al inicio del seguimiento.

Se recomiendan próximos estudios que involucren una metodología de modelamiento comparable que involucre mediciones adicionales respecto al estado de hidratación así como mediciones complementarias del estado nutricional de los pacientes.

CONCLUSIONES

En esta investigación se verificó que la interacción entre diabetes e IMC es significativa para explicar los tiempos de vida de los pacientes que acudieron al Servicio de diálisis peritoneal del Hospital Clínico Universitario de Caracas entre los años 1980 y 1997, y permitió estimar los riesgos de morir por causas asociadas a la diabetes en función de su edad e IMC, corrigiendo el efecto de la interacción entre diabetes e IMC.

Es importante destacar, la inclusión de la interacción en los modelos estadísticos es importante porque permiten controlar el efecto de dos o más covariables en la estimación del modelo, y permite la corrección de los efectos de las covariables principales incluidas en el modelo, y ella se puede incluir en una gran cantidad de modelos, incluyendo los principales modelos de análisis de supervivencia [33].

Sin embargo, en el caso del análisis de supervivencia, la interpretación de la interacción no es sencilla, y se recomienda utilizar otros tipos de modelos, como por ejemplo el modelo de riesgo aditivos, pero su incorporación en el modelo de Cox es útil para la identificación grupos diferenciados según el riesgo [34].

En este sentido, se concluye que: la interacción entre diabetes e índice de masa corporal es significativa (p -valor = 0,0391), y su incorporación en el modelo permite corregir la estimación de los parámetros del modelo propuesto por Borges [13], y con el mismo, se concluye que al aumentar en un año la edad, el riesgo de muerte por causas asociadas a la diálisis peritoneal, aumenta en un 3,14%, y al aumentar en una unidad el IMC, el riesgo de morir por causas asociadas a la diálisis peritoneal disminuye en 9,83%, siendo estas covariables significativas, al ser sus p -valor = 0,0015 y 0,0072, respectivamente, encontrándose además que en el modelo planteado, se verifican todos los supuestos del modelo de Cox, y permite además plantear un submodelo para pacientes diabéticos, encontrándose en el mismo, riesgos parecidos para edad e índice de masa corporal que los obtenidos mediante el modelo con todos los pacientes incluyendo la interacción entre diabetes e IMC.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes, Universidad de Los Andes (CDCHTA-ULA), por el financiamiento a través del Proyecto: E-355-15-09-B.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Aune D, Sen A, Prasad M, Norat T, Janszky I, Tonstad, *et al.* BMI and all cause mortality: systematic review and non-linear dose-response meta-analysis of 230 cohort studies with 3.74 million deaths among 30.3 million participants. *BMJ*. 2016; 353: i2156.
- [2] Liu J, Zeng X, Hong HG, Li Y, Fu P. The association between body mass index and mortality among Asian peritoneal dialysis patients: A meta-analysis. *PLoS ONE*. 2017; 12(2): e0172369.
- [3] Kiran VR, Zhu TY, Yip T, Lui SL, Lo WK. Body mass index and mortality risk in Asian peritoneal dialysis patients in Hong Kong – Impact of diabetes and cardiovascular disease status. *Peritoneal Dialysis International*. 2014; 34: 390–398.
- [4] Lo WK. Metabolic syndrome and obesity in peritoneal dialysis. *Kidney Res Clin Pract*. 2016; 35: 10e14.
- [5] Nessim SJ. Extremes of body mass index and mortality among Asian peritoneal dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International*. 2014; 34: 338–341.
- [6] Mehrotra R, Devuyst O, Davies SJ, Johnson DW. The current state of peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol*. 2016; 27: 3238–3252.
- [7] Sakaci T, Ahabap E, Basturk T, Kara YKE, Sevinc M, Ucar, Z, *et al.* Does body mass index affect survival and technique failure in patients undergoing peritoneal dialysis?. *Minerva Urologica e Nefrologica*. 2016; 68(3):302-310.
- [8] Szeto CC, Kwan BCH, Chow KM, Leung CB, Cheng MS, Law MC, *et al.* Metabolic syndrome in peritoneal dialysis patients: Choice of diagnostic criteria and prognostic implications. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014; 9: 779–787.
- [9] Salim SA, Akula Y, Kandhuri S, Afshan S, Zsom L, Dixit MP, *et al.* Successful peritoneal dialysis in large-weight subjects: Clinical features and comparisons with normal-weight subjects. *Advances in Peritoneal Dialysis*. 2016; 32: 61-67.
- [10] Xiong L, Cao S, Xu F, Zhou Q, Fan L, Xu Q, *et al.* Association of body mass index and body mass index change with mortality in incident peritoneal dialysis patients. *Nutrients*. 2015; 7: 8444–8455.

- [11] Borges RE. Un modelo de riesgos proporcionales con interacción para datos de diálisis peritoneal. Memorias del I Congreso Internacional de Producción Animal 2005. La Habana, Cuba. BI28.
- [12] Borges RE. Análisis de supervivencia aplicado a un caso de **diálisis** renal: Diálisis peritoneal en el Hospital Clínico Universitario de Caracas y hemodiálisis en el Hospital de Clínicas Caracas, 1980-2000 [Trabajo de grado de maestría]. Instituto de Estadística Aplicada y Computación, Facultad de Ciencias Económicas y Sociales, Universidad de Los Andes; 2002.
- [13] Borges RE. Análisis de supervivencia de pacientes con diálisis peritoneal. Revista Colombiana de Estadística. 2005; 28(2): 243–259.
- [14] World Health Organization. Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry. Ginebra, Suiza: WHO Technical Report Series 854; 1995.
- [15] Klein JP, Moeschberger ML. Survival analysis: Techniques for censored and truncated data. 2da ed. Nueva York: Springer; 2003.
- [16] Kleinbaum DG, Klein M. Survival analysis: A self-learning text. 3ra ed. Nueva York.: Springer; 2011.
- [17] Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimator from incomplete observations. Journal of the American Statistical Association. 1958; 53: 457-481.
- [18] Mantel, N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. Cancer Chemoterapy Reports. 1966; 50: 163-170.
- [19] Cox, DR. Regression models and life-tables. Journal of the Royal Statistical Society, Series B. 1972; 34: 187-220.
- [20] Akaike H. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. 2nd International Symposium on Information Theory. 1973: 267-281.
- [21] Therneau TM, Grambsch, PM. Modeling survival data: Extending the Cox model. Nueva York. Springer; 2000.
- [22] Aalen OO. Nonparametric estimation for a family of counting processes. The Annals of Statistics. 1978; 6: 701-726.
- [23] Fleming TR, Harrington DP. Counting processes and survival analysis. Nueva York: John Wiley & Sons, Inc; 1991.
- [24] Andersen P, Borgan O, Gill R, Keiding N. Statistical models based on counting processes. Nueva York: Springer-Verlag; 1993.
- [25] Vatcheva KP, Lee M, McCormick JB, Rahbar MH. The effect of ignoring statistical interactions in regression analyses conducted in epidemiologic studies: An example with survival analysis using Cox proportional hazards regression model. Epidemiology (Sunnyvale). 2016 (1): 216.
- [26] Therneau T. *_A Package for Survival Analysis in S_*, version 2.38; 2015. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=survival>.
- [27] R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; 2018. URL: <https://www.R-project.org/>.
- [28] RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA; 2016. URL: <http://www.rstudio.com/>.
- [29] Buis ML. Stata tip 87: Interpretation of interactions in nonlinear models. The Stata Journal 2010; 10(2): 305–308.
- [30] Buis ML. Stata tip 106: With or without reference. The Stata Journal 2012; 12(1): 162–164.
- [31] Berrington de Gonzalez A, Hartge P, Cerhan JR, Flint AJ, Hannan L, MacInnis RJ, *et al*. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. N Engl J Med. 2010; Dec 2; 363(23):2211-2219,
- [32] Caravaca F, Martínez del Viejo C, Villa J, Martínez Gallardo R, Ferreira F. Hydration status assessment by multi-frequency bioimpedance in patients with advanced chronic kidney disease. Nefrologia. 2011; 31(5):537-544.
- [33] Cox, DR. Interaction. International Statistical Review. 1984;53(1):1-24.
- [34] Rod, NH, Lange, T, Andersen, I, Marrott, JL, Diderichsen, F. Additive Interaction in Survival Analysis: Use of the Additive Hazards Model. Epidemiology. 2012;23(5):733-737.

Artículo original

Evolución del error total en la determinación de glucosa en un laboratorio de bioquímica clínica.

Evolution of total error in the determination of glucose in a laboratory of clinical biochemistry.

Molina Karla*, Torres Jeymmy, López María, Hurtado María, Guillen Leidys y Dugarte Freddy.

Grupo de Investigación en Aseguramiento de la Calidad y Análisis Clínico, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes Mérida, 5101, Venezuela.

Recibido: julio de 2019 – Aceptado: septiembre de 2019

RESUMEN

Con la finalidad de cuantificar el error total en la determinación de glucosa en un laboratorio de bioquímica clínica y la evolución del mismo, se evaluaron los resultados del control de calidad interno y de la participación en el Programa de Evaluación Externa de Calidad de la Universidad de Los Andes (PEEC-ULA), determinando el error aleatorio y sistemático, respectivamente. Para ello, se calculó el coeficiente de variación (CV) interensayo de los resultados del material de control interno y se utilizó el DRP obtenido durante el mes respectivo en la participación en el PEEC-ULA. Con los resultados obtenidos se calculó el error total (ET) con la suma del error aleatorio (EA) ($EA=1.65 \times CV$) y del error sistemático (ES) el cual será igual al DRP ($ES=DRP$), se comparó con el error máximo tolerable (EMT), de acuerdo a los criterios de Tonks y Aspen para tres encuestas de participación en el PEEC-ULA. El ET resultó superior al EMT para ambos criterios en las tres evaluaciones efectuadas; sin embargo, el mismo presentó disminución progresiva tanto por el EA (21,46%; 16,5% y 9,45%) como para el ES (7,96%; 7,77% y 1,41%), al presentar valores de 29,42%; 24,27% y 10,86%. Por tanto, se concluye que el laboratorio a pesar de no mantener control

sobre su ET, presenta una evolución que indica una mejoría continua en la calidad de sus resultados.

PALABRAS CLAVE

Error total, error sistemático, error aleatorio, exactitud, precisión, calidad

ABSTRACT

In order to quantify the total error in glucose determination in a clinical biochemistry laboratory and its evolution, we evaluated the results of internal quality control and participation in the External Quality Control Program of the University of Los Andes (PEEC-ULA), determining the random and systematic error, respectively. The variance coefficient (VC) of the internal control material results was calculated and the PRD obtained during the respective month for the participation in the PEEC-ULA was used. With the results obtained, the total error (ET) was calculated by the sum of the random error ($EA = 1.65 CV$) and the systematic error ($ES = DRP$), which was compared to the maximum tolerable error of the Tonks and Aspen criteria for three participation surveys in the PEEC-ULA. ET was superior to TMS for both criteria in all three evaluations performed (21.46%, 16.5% and 9.45%) and ES

(7.96%, 7.77% and 1.41%). Percentage values of 29.42%; 24.27% and 10.86%. Therefore, it is concluded that the laboratory, despite not maintaining control over its ET, presents an evolution that indicates a continuous improvement in the quality of its results.

KEY WORDS

Total error, systematic error, random error, accuracy, precision, quality.

INTRODUCCIÓN

La concentración de un analito en un fluido biológico varía en condiciones fisiológicas o patológicas; los resultados analíticos obtenidos de su determinación proporcionan información que permite establecer el diagnóstico y pronóstico de un paciente. Es por ello que los laboratorios deberían suministrar datos confiables que permitan al médico establecer el procedimiento a seguir para mejorar la salud del mismo [1].

Sin embargo, para que un resultado sea confiable, el laboratorio debe esforzarse en detectar, controlar y prevenir cualquier error que pueda ocurrir en la valoración de un analito determinado; en este sentido, los laboratorios deben controlar los errores administrativos (todos aquellos que se cometen en la etapa pre y post analítica) y los analíticos (aquellos inherentes a la determinación y que deben ser cuantificados)[1], por lo que, la credibilidad del resultado proviene del control de calidad utilizado durante la metodología seleccionada[2]. Así, para lograr resultados confiables, lo ideal sería el uso de métodos definitivos ya que, son considerados como los más exactos para evaluar una sustancia química en su estado de máxima pureza, considerando los resultados obtenidos por dicho método como valores verdaderos pues su determinación está prácticamente libre de errores; estos métodos son costosos y requieren de un personal especializado [3].

No obstante, los laboratorios de rutina emplean procedimientos analíticos derivados de los métodos anteriores, en los cuales los resultados obtenidos son trazables a los hallados por el método

definitivo [1,3], pero presentan errores analíticos cuya magnitud depende de múltiples factores, en donde predominan los errores de tipo aleatorio [4].

La diferencia que existe entre el valor verdadero que proporciona el método definitivo y el valor obtenido por el método utilizado en los laboratorios de rutina, está dada por la magnitud de los errores que tiene asociado este último. Estos errores son el resultado de la pérdida de la precisión y la exactitud y pueden ser clasificados en aleatorios y sistemáticos. Estos errores pueden a su vez ser exponenciales, es decir, aumentan con la concentración del analito, o ser constantes al mantenerse así durante todo el procedimiento analítico [3, 5, 6].

Por lo que, se hace necesario la aplicación de controles de calidad en la etapa analítica, los cuales según el Comité de Estandarización de la Federación Internacional de Bioquímica Clínica (IFCC) [7], permiten detectar los errores cometidos en esta etapa y nos orientan sobre los procedimientos a seguir para reconocerlos y minimizarlos.

Este control de calidad se lleva a cabo a través de programas de control de calidad que permiten obtener resultados confiables: exactos y precisos; siendo la exactitud la medida de concordancia entre un valor estimado y el valor real y la precisión el grado de concordancia entre las réplicas de una misma muestra [5, 8, 9].

Así, para evaluar la precisión de los resultados de un laboratorio se utiliza el programa de control de calidad interno, que consiste en el uso diario de muestras controles de diferentes niveles para cada determinación, permitiendo verificar la validez de los resultados del laboratorio y cuantificar su error aleatorio (EA).

Por otro lado, la exactitud de los resultados de los laboratorios puede evaluarse por medio de programas de evaluación externa de la calidad, al comparar los resultados obtenidos por el laboratorio participante en dicho programa, con el valor verdadero suministrado y evaluado por un ente externo, lo que permite al laboratorio conocer su error sistemático (ES).

En tal sentido, el error aleatorio se puede calcular al multiplicar el coeficiente de variación obtenido con los resultados del control interno de un mismo lote por 1,65 y el error sistemático es

suministrado por el evaluador de un programa de evaluación externa de la calidad. A pesar de que, estos errores son estimados por separado deben considerarse en forma conjunta como el error total (ET) de una medida y se calcula sumando sus componentes ($ET=ES+EA$) [1].

Existen criterios para evaluar si el error total está dentro del límite de aceptabilidad para una determinación analítica, entre estos están: el de Tonks y el de Aspen. En tal sentido, el objetivo de este trabajo es el de cuantificar el error total en la determinación de glucosa en un laboratorio de bioquímica clínica y conocer la evolución del mismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se procedió a evaluar los registros de los resultados del control de calidad interno para la determinación de glucosa y de la participación en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Universidad de Los Andes, a fin de determinar el error aleatorio y sistemático, respectivamente.

Para ello, se calculó la media (\bar{X}), desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) interensayo de los resultados del material de control interno para dicho analito, en donde el límite de control para la primera y tercera encuesta era de 75 a 101 mg/dL, mientras que, para la segunda encuesta era de 211 a 286 mg/dL y se utilizó el Desvío Relativo Porcentual (DRP) obtenido en el informe de resultados suministrado por el evaluador (PEEC-ULA).

Con el resultado del CV del control interno para glucosa obtenido durante el mes respectivo al de la participación en el PEEC-ULA, se calculó el error aleatorio ($EA=1.65 \times CV$) y se sumó el error sistemático ($ES=DRP$) suministrado por el evaluador, obteniéndose así el error total ($ET=ES+EA$). Este ET se comparó con el error máximo tolerable (EMT), de acuerdo a los criterios de Tonks (10%) y Aspen (5,6%) para tres encuestas de participación en el PEEC-ULA, evaluando así la evolución de la calidad de los resultados para glucosa en uno de los laboratorios de bioquímica clínica desde que inició su participación en el programa de evaluación externa de la calidad [10].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos del control de calidad interno y el CV obtenido para cada una de las encuestas se presentan en la Tabla 1, en esta se puede observar una disminución continua del coeficiente de variación lo que indica que el laboratorio clínico evaluado presenta mejoría en su precisión luego de su participación consecuente en el PEEC-ULA.

TABLA 1

Resultados del control interno de calidad de un laboratorio clínico durante su participación en tres encuestas del PEEC-ULA

Días	E1(mg/dL)	E2(mg/dL)	E3 (mg/dL)	Días	E1 (mg/dL)	E2 (mg/dL)	E3 (mg/dL)
1	86	250	80	18	95	330**	88
2	114**	298*	83	19	91	264	88
3	88	245	81	20	91	266	88
4	118**	298*	85	21	91	263	97
5	138**	268	80	22	89	332**	
6	85	280	77	23	90	260	
7	88	243	77	24	101	276	
8	91	230	82	25	88	263	
9	102*	310**	82	26	90	267	
10	86	321**	85	27	90	232	
11	86	265	91	28	87	263	
12	86	260	91	29	97	266	
13	102*	255	85	30	87		
14	120**	300*	88	31	87		
15	84	246	87	\bar{X}	94,9	271,	85
16	98	264	86	DE	12,3	27,1	4,9
17	96	252	84	CV (%)	13,0	10,0	5,7

X= Valor promedio; DE= Desviación estándar; CV= Coeficiente de Variación; E1= Encuesta 1; E2= Encuesta 2; E3= Encuesta 3; (*) = Datos fuera del límite de control; (**) Datos por encima de tres desviaciones estándares

El valor del CV obtenido en la encuesta tres (5,7%) es casi permisible según el criterio de Aspen, quien señala que la precisión intralaboratorio para glucosa debe ser menor a 5,6%. En el gráfico de Levey-Jennings (Fig.1), se muestra el control de calidad interno del mes anterior a la aplicación de la encuesta 1, en donde se observó que en un principio el laboratorio clínico no tenía control en la determinación de glucosa; después del día 15 a pesar de que los valores se encuentran en los límites de control, se puede observar que hay un desplazamiento de la media por encima del valor esperado del control utilizado; esto reafirma la importancia de utilizar estas gráficas en conjunto con las reglas de Westgard para validar la corrida y no solo el valor aislado del control diario [10].

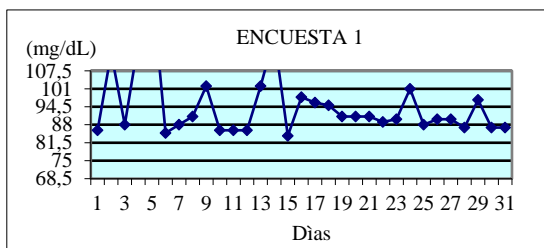


Fig.1 Gráfico de Levey-Jennings: Resultados del suero control normal utilizado antes de la encuesta 1.

En el gráfico de Levey-Jennings (Fig.2), se muestra el control de calidad interno aplicado antes de la encuesta 2, donde se observa el mismo desplazamiento por encima del valor esperado, pero en este caso se trata de un suero control anormal.

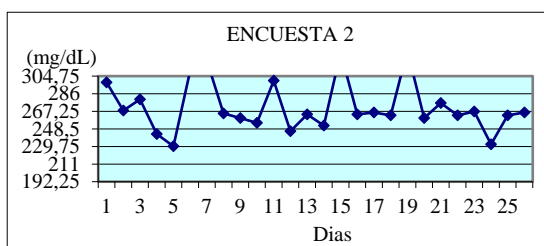


Fig.2 Gráfico del Levey-Jennings: Resultados del suero control anormal utilizado antes de la encuesta 2.

En el gráfico de Levey-Jennings (Fig.3), se muestra el control de calidad interno utilizado antes de la encuesta 3, en esta gráfica es notoria la mejoría de la precisión en relación con las dos encuestas anteriores, al comparar el valor medio teórico o esperado del control (88 mg/dL) con el obtenido por el laboratorio (85 mg/dL) se observa que este se encuentra solo 3 mg/dL por debajo del valor esperado mientras que en la primera encuesta a pesar de tratarse del mismo lote de suero control la media obtenida fue de 95 mg/dL; es decir, 10 mg/dL por encima del valor teórico.



Fig. 3 Gráfico del Levey-Jennings: Resultados del suero control normal utilizado antes de la encuesta 3.

En la Tabla 2 se muestran los resultados del error total en donde, el error sistemático (DRP) suministrado por el evaluador fue de 7,96%, 7,77% y 1,41%; el error aleatorio resultante de multiplicar el CV obtenido en cada una de las encuestas (13,0%; 10,0% y 5,7%) por 1,65 fue de (21,46%; 16,50% y 9,45%) para las encuestas 1, 2 y 3 respectivamente. Por lo que el error total producto de la suma del error sistemático y el aleatorio es de 29,4%; 24,2% y 10,8% para cada encuesta correspondiente.

TABLA 2

Resultados del error total de un laboratorio clínico durante su participación en tres encuestas del PEEC-ULA

γ	E1 (%)	E2 (%)	E3 (%)
Error aleatorio (1,65xCV)	21,46	16,50	9,45
Error Sistemático (DRP)	7,96	7,77	1,41
Error total (Sistemático + Aleatorio)	29,4	24,2	10,8
CV= Coeficiente de Variación; DRP= Desvío Relativo Porcentual; E1= Encuesta 1; E2= Encuesta 2; E3= Encuesta3.			

En esta tabla se observa que el error total resultó superior al error máximo tolerable (EMT) tanto por el criterio de Tonks como por el de Aspen en las tres evaluaciones efectuadas; sin embargo, el mismo presentó disminución progresiva tanto para el error aleatorio (EA) como para el error sistemático (ES).

A su vez es de hacer notar, la disminución del error total para la determinación en glucosa por parte del laboratorio clínico evaluado desde su participación en el PEEC-ULA, lo cual concuerda con las conclusiones de Guarache y Rodríguez del 2003[11], quienes indican que la participación en los programas de este tipo mejora los resultados obtenidos en las determinaciones bioquímicas, afirmando esto lo señalado por Del Campillo y De Elias en 2017, quienes observaron una variación estable mes a mes y un comportamiento sin desviaciones de lo habitual del ET, lo que se considera como una medida de buen desempeño[12].

CONCLUSIONES

El laboratorio de bioquímica clínica evaluado, a pesar de no mantener control sobre su error total (ET), presenta una evolución que indica una mejoría continua en la calidad de sus resultados. Siendo recomendable la utilización de las gráficas de Levey-Jennings para el control de calidad interno y la aplicación de las reglas de Westgard para detectar y corregir rápidamente las tendencias o errores que se puedan presentar en un momento determinado; además de continuar participando en los programas de evaluación externa de la calidad para asegurar la mejoría continua de sus resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica. Gestión de calidad en el laboratorio clínico. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana; 2005.

[2] Burtis C, Ashwood E. Textbook of clinical chemistry. Editorial W.B. Saunders Company. 2001. Third Edition.

[3] Gella J. Metrología en el laboratorio clínico. BioSystems, S.A. Barcelona; 1998.

[4] Maroto A. Incertidumbre en métodos analíticos de rutina [Tesis Doctoral]. Universitat Rovira I Virgili. Tarragona; 2002.

[5] Boquet E, Castillo M, Cáceres A, Dybkaer, R, Escutia V, Franzini C, Jeffers D, *et al.* Mejoría Continua de la Calidad. Guía para los Laboratorios Clínicos de América Latina. Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica. México: Editorial Médica Panamericana; 1996.

[6] Stewart C, Koepke J. Basic quality assurance practices for clinical laboratories. New York: Editorial Van Nostrand Reinhold; 1988.

[7] Federación Internacional de Bioquímica Clínica (IFCC). Comité de Estandarización. 2013.

[8] Skoog D, West D, Holler F. Química Analítica. México: Editorial Mc Graw-Hill; 1995.

[9] Rodríguez N, Lorente A, Velásquez Y, González E. Confiabilidad del método Slott modificado por Laboratorios Heiga para la

determinación directa de la creatinina. Revista de la Facultad de Farmacia. 2001;43(3): 13-18.

[10] Gómez R, Moscoso H, Retamales E, Valenzuela C. Guía Técnica para control de calidad de mediciones cuantitativas en el Laboratorio Clínico. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile. 2015. 3-18.

[11] Guarache H, Rodríguez N. Evaluación externa de la calidad en el área de Bioquímica Clínica en laboratorios clínicos de Cumana. Estado Sucre. Revista de la Facultad de Farmacia. 2003; 45(1): 30-35.

[12] Del Campillo S, De Elias R, Kiener G, Kiener O, Barzón S. Especificaciones de calidad en base a error total: ¿Cuál es la mejor elección?. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 2017; 51(2): 227-235.

Artículo original

Actividad larvicida de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* contra *Tecia solanivora* Povolny.

Larvicidal activity of *Minthostachys mollis* and *Lepechinia bullata* essential oils against *Tecia solanivora* Povolny.

Ramírez-Mancilla Rosslyn^{1*}, Mora-Vivas Flor¹, Domínguez-Guerrero Ilka², Rojas-Fermín Luis³, Ramírez-Méndez Wuilson², Peña-Albornoz José¹, Pérez-Colmenares Alida³.

¹Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes. ³Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

Recibido: julio de 2019 – Aceptado: septiembre de 2019

RESUMEN

En el presente trabajo se describe la actividad larvicida de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* (Lamiaceae) contra *Tecia solanivora* una plaga que afecta a los cultivos de papa (*Solanum tuberosum*). Los aceites fueron obtenidos por hidrodestilación y su actividad biológica fue valorada por el método de papel impregnado o de contacto y fumigante para larvas. Los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* pertenecientes a la familia Lamiaceae resultaron activos contra larvas de *Tecia solanivora* a las 24 h obteniéndose valores de CL₅₀ de 0,020 µL/cm² y 0,113 µL/cm², respectivamente. La actividad observada en dichos aceites puede deberse a la presencia de los compuestos mayoritarios pulegona (55,2%) y *trans*-mentona (31,5%) presentes en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y β-felandreno (14,9%) y prenaespirodieno (14,8%) para *Lepechinia bullata*, además puede deberse al efecto sinérgico de los diferentes componentes de estos aceites esenciales. En este sentido atendiendo la necesidad de buscar nuevos productos naturales con efecto larvicida, las especies *Minthostachys mollis* y

Lepechinia bullata podrían representar una alternativa como agentes larvicidas.

PALABRAS CLAVE

Actividad larvicida, plagas, *Tecia solanivora*, aceites esenciales, *Minthostachys mollis*, *Lepechinia bullata*, Lamiaceae.

ABSTRACT

This work describes the larvicidal activity of *Minthostachys mollis* and *Lepechinia bullata* (Lamiaceae) essential oils against *Tecia solanivora*, a potato (*Solanum tuberosum*) crop pest. The oils were obtained by hydrodistillation and their biological activity was assessed by impregnated paper or contact and larvae fumigant methods. *Minthostachys mollis* and *Lepechinia bullata* essential oils were found to be active against *Tecia solanivora* after 24 h. The CL₅₀ obtained were 0.020 µL/cm² and 0.113 µL/cm² respectively. The activity observed in these oils may be due to the presence of major compounds pulegone (55.2%) and *trans*-menthone (31.5%) present in *Minthostachys mollis* essential oil and β-phellandrene (14.9%) and prenaespirodien

(14.8%) in *Lepechinia bullata*, thus, it also may be due to a synergistic effect between the different components of these essential oils. In this sense, taking into account the need of searching for new natural products with larvicidal effect, *Minthostachys mollis* and *Lepechinia bullata* might represent an alternative as larvicidal agents.

KEY WORDS

Larvicidal activity, pest, *Tecia solanivora*, essential oils, *Minthostachys mollis*, *Lepechinia bullata*, Lamiaceae.

INTRODUCCIÓN

Entre las familias de plantas aromáticas más estudiadas por la cantidad de metabolitos secundarios que posee, principalmente los terpenoides, se encuentra la Lamiaceae [1]. La familia incluye 250 géneros y 7852 especies en todo el mundo [2], mientras que en Venezuela se han reportado alrededor de 26 géneros y 120 especies [3]. Esta familia presenta una gran importancia económica, debido a los aceites esenciales que poseen y su uso a nivel gastronómico, especialmente los géneros *Minthostachys* y *Lepechinia* [4].

Minthostachys mollis (HBK) Griseb es una especie originaria de Suramérica y se encuentra distribuida en forma silvestre a lo largo de la Cordillera de los Andes desde Venezuela, Bolivia, Perú, Colombia hasta la Argentina. También se le conoce con los nombres comunes de: Cruz de Muña o Martín muña en Colombia y Perú, en los andes venezolanos se conoce como oreganote y es empleada a nivel gastronómico como condimento, insecticida, vermífugo y para proteger los productos agrícolas almacenados especialmente en la producción de la papa [5].

El aceite esencial de *M. mollis* ha mostrado efectos repelentes contra el ácaro *Varroa destructor*, causante de la varroasis, una enfermedad grave en las abejas [6]. En el 2004, se reportó que tanto el aceite esencial de *M. mollis*, representado por los compuestos mayoritarios mentona, pulegona, y cariofileno, como las fracciones terpénicas y fenólicas del mismo,

poseen actividad insecticida sobre las plagas *Acanthocelides obtectus* (Say) e *Hypothenemus hampei* (Ferrari), comúnmente denominada broca del café [7]. Este aceite también ha demostrado poseer actividad repelente contra el mosquito *Culex quinquefasciatus* [8]. En un estudio llevado a cabo sobre la variación cuantitativa del aceite esencial de las hojas de *M. mollis*, estas fueron expuestas a 4 tipos de insectos folívoros con diferentes hábitos de alimentación (masticación, raspado, chupadores de savia y perforación), haciendo una comparación con hojas de la misma especie no expuestas a insectos. Se determinó que el contenido de mentona disminuyó en el aceite esencial de hojas dañadas y no dañadas, mientras que la concentración de pulegona aumentó en todos los tratamientos [9]. En Perú la papa almacenada se protege contra la polilla *Phthorimaea operculella* (Lep. Gelechiidae) usando diferentes especies de *Minthostachys* (*M. spicata*, *M. glabrenscens* y *M. mollis*) para cubrir los tubérculos se ha observado que la oviposición es reducida en un 80% [10].

El género de *Lepechinia* se distribuye en el Norte y Noroeste de Venezuela [11]. *Lepechinia* ha incentivado el desarrollo de investigaciones que han corroborado su uso popular, mostrando actividad antioxidante, antimicótica y antimicrobiana [12-14]. *L. bullata* (Kunth) Epling, comúnmente llamada “Salvielugo”, es un arbusto de 1,5 hasta 4 m de altura., muy común dentro de este género [15]. Con respecto a la actividad insecticida, el aceite esencial de *L. betonicifolia*, cuyo componente mayoritario es el limoneno, ha demostrado actividad repelente contra *Tribolium castaneum* Herbst [16]. El aceite esencial de *L. schamaedryoides* posee actividad larvicida contra *Drosophila melanogaster*, registrándose una mortalidad mayor al 90% en cuatro concentraciones del aceite esencial. La concentración letal 50 (CL₅₀) del aceite esencial fue de 0,46% v/v y la concentración letal 90 (CL₉₀) de 0,77% v/v [17]. La plaga *Tecia solanivora* es un insecto del Orden Lepidóptera de la familia Gelechiidae, que actualmente se conoce popularmente como polilla guatemalteca “polilla centroamericana”, “polilla gigante”, “guata” o “tomineja” [18, 19]. La polilla se considera una plaga primaria del cultivo de papa en las zonas del páramo, una vez que la semilla se infesta con sus

huevos, las pérdidas económicas son considerables ya que el producto es rechazado por la población para su consumo [19, 20]. El presente trabajo tiene como finalidad determinar la actividad larvicida de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* contra larvas de *Tecia solanivora*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico (*Tecia solanivora*): para la obtención de larvas de *T. solanivora* se colectaron papas (*Solanum tuberosum*), infestadas con larvas, pupas y adultos identificados por sus tamaños y formas dentro del ciclo de vida de *Tecia solanivora*, traídas de diferentes sectores del estado Mérida, a fin de mantener las jaulas de cría. Las papas infestadas se colocaron en platos plásticos con tierra tamizada, las cuales se mantuvieron en jaulas de cría en el Laboratorio de Entomología del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) a $65 \pm 5\%$ de humedad relativa y $20 \pm 5^\circ\text{C}$ de temperatura [21].

Obtención de los aceites esenciales por hidrodestilación: el aceite esencial de *M. mollis* fue obtenido en el Laboratorio de Investigación “Ramón Masini Osuna” de la Cátedra de Medicamentos Orgánicos de la Universidad de Los Andes. Las hojas frescas (300 g) se cortaron en trozos pequeños y se sometieron a hidrodestilación durante 3 horas usando la trampa de Clevenger. El aceite esencial de las hojas de *Lepechinia bullata* fue obtenido por hidrodestilación usando igualmente la trampa de Clevenger y almacenado a 4°C en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Determinación de la actividad larvicida contra *Tecia solanivora*. Método del papel impregnado o de contacto y fumigante para larvas: la actividad larvicida se determinó por el método de papel impregnado o de contacto y fumigante para larvas, descrito por Mona, 2011 y Prates *et al.*, 1998 [22, 23]. Para los aceites activos se realizó una solución Stock al 9% v/v en acetona. Esta solución Stock sirvió de base para obtener soluciones seriadas de 0,157; 0,118; 0,079; 0,039; 0,020 y 0,005 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Se impregnó un papel de

filtro de 90 mm con 1 mL de cada una de las diluciones del aceite y se dejó evaporar el solvente durante 10 min a temperatura ambiente. Cinco larvas de *T. solanivora* del cuarto instar identificadas por su tamaño y color, fueron seleccionadas y colocadas dentro de las cápsulas de petri. Se realizaron tres réplicas por volumen y como control negativo fue utilizado 1 mL de acetona. Después de transcurridas las 24 h se realizó la evaluación para contar el número de larvas muertas. El valor de la CL_{50} fue calculado mediante análisis Probit usando el programa estadístico BioStat 2007 (Analyst Soft Company). Como control positivo se tomaron en cuenta los insecticidas Avermectina® y Bifentrin®, trabajo realizado en el mismo laboratorio bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad, utilizando el paquete estadístico SPSS Statistics 17.0 versión para Windows, con el fin de determinar si los efectos de los tratamientos eran significativamente diferentes [21]. Las larvas se consideraron muertas si están inmóviles o incapaces de moverse, sin actividad locomotora propia, ya fuese en forma espontánea, con el estímulo de un pincel o con una pinza según lo establecido por el protocolo de la actividad insecticida de la Organización Mundial de la Salud [24]. Las pruebas se realizaron en el Laboratorio de Entomología del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la Universidad de Los Andes, bajo condiciones de $65 \pm 5\%$ de humedad relativa y temperatura de $20 \pm 5^\circ\text{C}$ [21].

RESULTADOS

Actividad larvicida contra *Tecia solanivora*: las pruebas de susceptibilidad sobre las larvas del cuarto instar de *T. solanivora* mostraron que el aceite esencial *M. mollis* presentó un potente efecto larvicida a altas concentraciones sobre el 100 % de las larvas, la mortalidad se ubicó en el rango de concentración de 0,005 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (20%) y 0,157 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (99,99%) a las 24 h (Fig. 1). De manera que el valor de CL_{50} , fue calculado en 0,020 $\mu\text{L}/\text{placa}$ a las 24 h. Para el aceite esencial de *L. bullata* las pruebas de susceptibilidad sobre las larvas del cuarto instar de *T. solanivora* mostraron que la mortalidad se ubicó en el rango de concentración

de 0,005 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (0%) y 0,157 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (66,66 %) de manera que el valor de CL_{50} , fue calculado en 0,113 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ (Fig. 1).

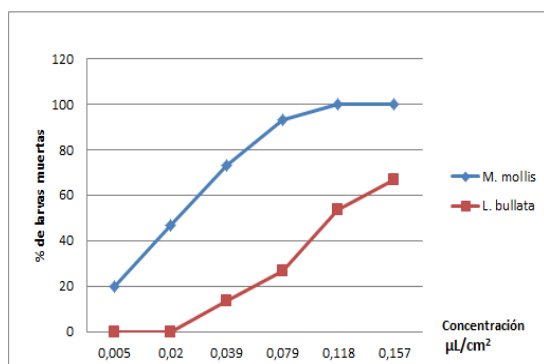


Fig. 1. Mortalidad larval de *Tecia solanivora* en función de la concentración de los aceites esenciales de *L. bullata* y *M. Mollis*

DISCUSIONES

Los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* han sido estudiados previamente en varios países Latinoamericanos [25-28]. La composición química del aceite de *M. mollis* utilizado para este estudio mostró que la pulegona y *trans*-mentona son sus constituyentes principales [27]. Así mismo, la actividad larvicida ha sido previamente evaluada para algunos insectos, por ejemplo, la contaminación de la papa por la plaga *Phthorimaea operculella* es evitada almacenando y protegiendo el tubérculo de la papa con hojas secas de diferentes especies de *M. spicata*, *M. glabrenscens* y *M. mollis*, este tratamiento reduce la oviposición de *Phthorimaea operculella* en un 80% [10]. Otros estudios realizados con el aceite esencial de *M. mollis* han determinado su uso para el control de diferentes plagas y virus, así como su acción insecticida y larvicida [7, 8]. Algunos autores le atribuyen esta acción a los terpenos mentona y pulegona [7]. Un estudio reporta la actividad insecticida, ovicida, contra *Tecia solanivora* de diferentes aceites de la familia Lamiaceae [29]. La composición química del aceite esencial de *L. bullata* también ha sido previamente reportada mostrando los componentes mayoritarios β -felandreno (14,9%) y prena-espirodieno (14,8%) [28] de acuerdo con la investigación y para el conocimiento según la

revisión bibliográfica realizada no se han reportado datos de esta especie con actividad insecticida.

En este estudio se reporta por primera vez la actividad larvicida de los aceites esenciales de *M. mollis* y *L. bullata* contra la plaga de la papa *Tecia solanivora* a una CL_{50} de 0,020 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ y 0,113 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, respectivamente, pudiendo deberse esta acción a los compuestos mayoritarios de estos aceites esenciales en estudio [27, 28]. Los valores de CL_{50} demuestran que las mortalidades obtenidas para cada uno de los aceites están asociadas a las dosis usadas determinando que la actividad larvicida es proporcional a las concentraciones utilizadas (0,020 y 0,113 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$). Entre los dos aceites, *M. mollis* fue el que presentó mayor actividad larvicida (99,99%) a las 24 h.

CONCLUSIONES

El presente trabajo demuestra que los aceites esenciales de las especies *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* son activos contra larvas de *T. solanivora*. El aceite esencial obtenido de hojas de *M. mollis* tiene una potente actividad larvicida con un valor de CL_{50} , calculado en 0,020 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ las 24 h. Así mismo, el aceite esencial obtenido de hojas de *L. bullata* también posee una buena actividad larvicida contra *T. solanivora* en laboratorio con una CL_{50} , de 0,113 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ a las 24 h. En este sentido atendiendo la necesidad de buscar los productos naturales con efecto larvicida, se presentan las especies *Minthostachys mollis* con excelente actividad larvicida y *L. bullata* con actividad larvicida moderada contra *Tecia solanivora*. También se sugieren que esta investigación sea aplicada posteriormente a una concentración adecuada en los cultivos de papa en campo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes a través del proyecto FA-546-13-03-EM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Martínez A. Aceites esenciales. Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica de Medellín; 2001.
- [2] Turismo, Huanuco Perú: Casa Hacienda Shismay. La Muña de Shismay [Página Web] 2017 [acceso: 10 de abril de 2017]. Disponible en: Shismayhttp://shismay.blogspot.com/2013/06/la-muna-de-shismay-minthostachys-mollis.html
- [3] Velázquez D, Arrijoa de E, Tillett S. Usos populares de las Lamiaceae en Venezuela. Acta Bot Venez. 1995; 18(1y2): 5-20.
- [4] Martínez G, Martínez F, García P, Montiel O. Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. Rev Mex Biodiversidad. 2013; 84(1): 30-86.
- [5] Hurtado P, Hurtado P, Munares E, Morales A. Aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) algunos aspectos de su extracción y utilización. Recopilación de conferencias dictadas durante la reunión Técnica Latinoamericana de Agroindustriales, Federación Nacional de Cafeteros, Manizales, Colombia. 1987; Pg. 34-45.
- [6] Ruffinengo S, Eguaras M, Floris I, Faverin C, Bailac P, Ponzi M. LD₅₀ and repellent effects of essential oils from Argentinian wild plant species on Varroa destructor. J Econ Entomol. 2005; 98(3): 651-655.
- [7] Calle J, Espinosa A, Nuñez C, Bautista E, Pinzón R. Actividad insecticida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (HBK) Griseb y sus componentes. Rev Colomb Cienc Quim Farm. 2004; 33(2): 137-144.
- [8] Konigheim B, Aguilar J, Batallan G, Almirón W, Contigiani M. La flora Nativa de Cordoba (Argentina) y su importancia en salud Pública. Rev Fac Cien Med. 2009; 66(1): 35-41.
- [9] Banchio E, Zygadlo J, Valladares G. Quantitative variations in the essential oil of *Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb. in response to insects with different feeding habits. J Agric Food Chemistry. 2005; 53(17): 6903-6906.
- [10] Guerra P, Molina I, Yabar E, Gianoli E. Oviposition de-terrence of shoots and essential oils of *Minthostachys* spp. (Lamiaceae) against the potato tuber moth. J Appl Entomol. 2007; 131(2): 134-138.
- [11] Cegarra J, Soriano P, Costa M, Lluch A, Martínez S. Especies medicinales y tóxicas del género *Lepechinia* Willd. Rev Fitoter. 2006; 6(2): 155-159.
- [12] Stashenko E, Cervantes M, Combariza Y, Fuentes H, Martínez J. HRGC/FID and HRGC/MSD analysis of the secondary metabolites obtained by different extraction methods from *Lepechinia schiedeana*, and *In Vitro* evaluation of its antioxidant activity. J High Resolut Chrom. 1999; 22(6): 343-349.
- [13] Parejo I, Caprai E, Bastida J, Viladomat F, Jáuregui O, Codina C. Investigation of *Lepechinia graveolens* for its antioxidant activity and phenolic composition. J Ethnopharmacol. 2004; 94(1): 175-184.
- [14] Rojas L, Usubillaga A, Cegarra J, Borregales E. Composición química y actividad antimicótica del aceite esencial de *Lepechinia schiedeana* (Schlecht) Vatke. Rev Fac Farm. 2004; 46(1): 27-30.
- [15] Velázquez D. Claves para los géneros de Lamiaceae en Venezuela. Acta Bot Venez. 1997; 20(1): 1-42.
- [16] Caballero K, Olivero J, Stashenko E. Repellent Activity of essential oils and some of their individual constituents against *Tribolium castaneum* Herbst. J Agric Food Chem. 2011; 59(5): 1690-1696.
- [17] Suazo G, González F, Urbina A, Pastene E, Sáez K, Serrig H, Chávez R. Actividad insecticida del aceite esencial de *Lepechinia chamaedryoides* (Balb.) Epling en *Drosophila melanogaster*. Gayana Bot. 2012; 69(2): 256-266.
- [18] Pollet A, Barragán A, Lagnaoui A, Prado M, Onore G, Aveiga I, Lery X, Zeddani J. Prea altas concentraciones dición de daños de la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* (Povolny) 1973 (Lepidoptera: *Gelechiidae*) en el Ecuador. Bol. Sanid. veg., Plagas. 2003; 29(2): 233-242.
- [19] Herrera F. La polilla guatemalteca de la papa. Biología, comportamiento y prácticas demanejo integrado de la polilla guatemalteca de la papa. Segunda edición. Programa Regional Agrícola Regional (Boyacá-Cundinamarca). CORPOICA, FEDEPAPA. 1998; pg.1-2.
- [20] Niño L. Revisión sobre la polilla de la papa *Tecia solanivora* en centro y Suramérica. Instituto

Nacional de Investigaciones Agrícolas. Suplemento Rev latinoam. Papa. 2004; pg. 21.

[21] Domínguez I, Carrero C, Ramírez W, Segovia P, Pino H. Evaluación del efecto de insecticidas sobre larvas de *Tecia solanivora*. Agr. Andina. 2009; 17: 61-73.

[22] Mona, A. Bioactivities and Biochemical Effects of Marjoram Essential Oil used against Potato Tuber Moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). Life Sci J. 2011; 8(1): 288-297.

[23] Prates H, Santos J, Waquil J, Fabris J, Oliveira A, Forster J. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F) and *T. castaneum* (Herbst). J Stored Prod Res, 1998; 34(IV): 243-249.

[24] Guías de laboratorio y pruebas de campo para larvas [Página Web] 2015 [acceso: 06 de mayo de 2017]. Disponible en: WHO_CDS_WHOPES_GCDPP_2005.13.pdf

[25] Malagón O, Vila R, Iglesias J, Zaragoza T, Cañigual S. Composition of the essential oils of four medicinal plants from Ecuador. Flavour Frag J. 2003; 18(6): 527-531.

[26] Cano C, Bonilla P, Roque M, y Ruiz J. Actividad antimicótica *in vitro* y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Rev Peru de Med Exp Salud Pública. 2008; 25(3): 298-301.

[27] Mora F, Araque M, Rojas L, Ramírez R, Silva B, Usubillaga A. Chemical Composition and *in vitro* Antibacterial activity of the essential oil of *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb Vaught from the Venezuelan Andes. Nat Prod Commun. 2009; 4(7): 997-1000.

[28] Pérez A, Rojas L, Usubillaga A. The volatile constituents of leaves from *Lepechinia bullata* (Kunth) Epling from Venezuelan Andes. Rev Fac Farm. 2017; 59(2): 13-14.

[29] Ramírez J, Gómez M, Cotes J, Ñustez C. Efecto insecticida de los aceites esenciales de algunas Lamiaceas sobre *Tecia solanivora* Povolny en condiciones de laboratorio. Agron Colomb. 2010; 28(2): 255-263.

Artículo original

Composición química y actividad biológica de los extractos de las partes aéreas de *Leonurus japonicus* (Houtt.).

Chemical composition and biological activity of extracts of aerial parts of *Leonurus japonicus* (Houtt.).

Malave María José¹, Mendoza Zulimar¹, Morillo Marielba^{1*}, Visbal Tomas², Rondón María Eugenia³, Carmona Juan³.

¹Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ²Departamento de Ciencias de Los Alimentos. ³Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos. Universidad de Los Andes. Mérida CP 5101, República Bolivariana de Venezuela.

Recibido: julio de 2019 – Aceptado: septiembre de 2019

RESUMEN

Leonurus japonicus Houtt. (Lamiaceae), es una especie que ha sido estudiada en las últimas tres décadas, muchos investigadores se han centrado en la determinación de su composición química, las actividades farmacológicas y sus aplicaciones, logrando aislar más de 280 compuestos químicos de esta especie. El objetivo de esta investigación fue estudiar la composición química y actividad biológica de los extractos obtenidos de las partes aéreas, de *L. japonicus*, recolectada en el estado Mérida, Venezuela. El análisis fitoquímico preliminar mostró la presencia de esteroides en los extractos hexanoico y diclorometanoico; y alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides y esteroides en el extracto etanólico. El extracto etanólico presentó un contenido fenólico total de 0,89 µg AG/mg. La actividad antioxidante fue determinada empleando el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), siendo el extracto etanólico el más activo ya que mostró un IC₅₀ de 0,457 mg/mL; a la concentración de 0,5 mg/mL, el porcentaje de inhibición del radical DPPH fue 57,7 % en comparación a un 96,1 % del ácido ascórbico utilizado como control positivo, a la concentración de 0,176 mg/mL. Además, dicho extracto resultó

ser relativamente inocuo sobre nauplios de *Artemia salina*, con un porcentaje de letalidad de 8,3 a 2500 ppm, y la DL₅₀ de 2913,55 ppm. Cabe destacar que este es el primer reporte de actividad antioxidante, cuantificación de fenoles totales y toxicidad sobre *A. salina* de los extractos de *L. japonicus*, recolectada en Mérida, Venezuela.

PALABRAS CLAVE

Leonurus japonicus Houtt, Lamiaceae, actividad antioxidante, letalidad, *Artemia salina*.

ABSTRACT

Leonurus japonicus Houtt. (Lamiaceae), is a specie that has been studied in the last three decades, many researchers have focused on determining their chemical composition, pharmacological activities and their applications, managing to isolate more than 280 chemical compounds of this. The objective of this research was to study the chemical composition and biological activity of the extracts obtained from the aerial parts of *L. japonicus*, collected in Mérida, Venezuela. Preliminary phytochemical studies showed the presence of sterols in hexanoic and dichloromethane extracts, and alkaloids, phenols

compounds, flavonoids and sterols in the ethanolic extract. In present investigation, the ethanolic extract had a total phenolic content of 0.89 μg AG/mg extract. The antioxidant activity was determined using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) using spectrophotometry UV-visible at a wavelength of 517 nm. The ethanolic extract showed an IC_{50} of 0.457 mg/mL, at the concentration of 0.5 mg/mL, inhibition percentages of these radicals was 57.7% compared to 96.1% of the ascorbic acid, used as a positive control, at the concentration of 0.176 mg /mL. In addition, this extract proved to be relatively harmless on *Artemia salina* nauplii, with a lethality percentage of 8.3 to 2500 ppm, and the LD_{50} of 2913.55 ppm. It should be noted that this is the first report of antioxidant activity, quantification of total phenols and toxicity on *A. salina* from the extracts of *L. japonicus*, collected in Venezuela.

KEY WORDS

Leonurus japonicus Houtt, Lamiaceae, antioxidant activity, lethality, *Artemia salina*.

INTRODUCCIÓN

La familia Lamiaceae (Labiatae), es la sexta familia de plantas más grande que existe con más de 200 géneros y más de 7000 especies [1]. La organización mundial de la salud, sugiere que algunas plantas pertenecientes a esta familia con una larga historia de usos y efectos terapéuticos, deben ser estudiadas, con la finalidad de encontrar nuevos principios activos con propiedades para su uso terapéutico en ciertas enfermedades [2]. En América del Sur, la mayor representación de la familia Lamiaceae se encuentra en Brasil y en Venezuela consta de 26 géneros y alrededor de 120 especies [3].

La especie *Leonurus japonicus* Houtt. (Labiatae), comúnmente llamada “agripalma china” o “cola de león”, nativa de varias regiones de Asia, incluidas China, Corea, Japón y Camboya. Además de encontrarse presente en algunas regiones de Europa, África, Norte y Sur América. Se ha usado para tratar menoxenia, dismenorrea, amenorrea, loquios, edema del cuerpo, oliguresis,

llagas, ulceraciones y otras enfermedades en mujeres [4].

Desde 1990, se han desarrollado numerosas investigaciones sobre los componentes químicos y actividades farmacológicas de esta planta, debido a su importante papel en las enfermedades de la mujer; sin embargo, todavía hay falta de información sobre su aplicación clínica. A pesar de esto, se ha reportado la composición química de esta especie detectándose la presencia de alcaloides, diterpenos, flavonas, nor-triterpenoides espirociclicos, glicósidos feniletanoides, glicósidos sesquiterpenos, compuestos volátiles y otros compuestos. Particularmente, el alcaloide stachidrina aislado de *L. japonicus*, que se utiliza como indicador oficial de la calidad de esta hierba y de sus preparaciones [4].

Miao y col (2019) [5], recopilaron los estudios de varios investigadores, y reportaron el aislamiento de más de 280 compuestos en esta especie, distribuidos de la siguiente manera: 90 diterpenoides; 36 triterpenoides incluyendo 11 nor triterpenoides inusuales; 35 flavonoide incluyendo 10 flavonas, 24 flavonoles y una iso flavona; 7 fenilpropanoides simples, 11 cumarinas y 5 lignanos; además de una serie de glicósidos hepatoprotectores leonosido E, cistanosido E y leonosido F.

Además, los alcaloides son los principales componentes químicos activos, que se encuentran presentes en *L. japonicus*, en un alto contenido de los cuales se han aislado muchos subtipos como: guanidinas, espermidinas, piridinas, nucleósidos, alcaloides esteroideos, derivados de aminoácidos y ciclopéptidos, además de tres guanidinas naturales inusuales y se ha aislado ampliamente la stachidrina y leonurina [5].

Los estudios farmacológicos modernos muestran que los componentes activos de plantas del género *Leonurus*, más específicamente de la especie *L. japonicus*, poseen amplias acciones farmacológicas, tales como: acciones cardioprotectoras, analgésicas, antiinflamatorias, neuroprotectoras, antitrombótica, vasodilatador, anti agregación plaquetaria, inhibidor de la α -glicosidasa, inhibidor de la colinesterasa, regulador de la producción de melanina, regulador de la actividad inmune, antibacterial, citotóxica, protector de miocardio, antisquémico, angiogenica,

anti-arteriosclerótica, protector cerebral, actividad promotora de la contracción uterina, anti-metrorragia, anti-tumoral, antidiabética, antioxidante, hepatoprotectora [4,5].

Esta investigación tiene como objetivo determinar la composición química cualitativa, contenido de polifenoles, actividad antioxidante y toxicidad sobre *Artemia salina* de los extractos de las partes aéreas de *Leonurus japonicus* Houtt, recolectada en Mérida, Venezuela.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección de la muestra

El material vegetal fue recolectado en el sector Portachuelo, vía Jají, Municipio Campo Elías, Parroquia Montalbán, Mérida, Venezuela, a una altitud aproximadamente de 1781 msnm. La planta fue identificada botánicamente por el Ing. Juan Carmona, adscrito al Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA. Se depositó una muestra en el herbario "Dr. Luis Enrique Ruiz Terán" (MERF), de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA, Mérida, identificado como voucher, número 03 de la colección (29/05/2017).

Obtención de los extractos de las partes aéreas de *L. japonicus* Houtt.

Se utilizaron hojas, tallo y flores de la planta, se cortaron en trozos pequeños, se secaron en una estufa a 40 °C durante 48 horas, se procedió a moler y pesar en una balanza Denver Instrument XL 3100, se pesaron 200 g del material vegetal seco. Se preparó el extracto hexanoico, por maceración a temperatura ambiente, para tal fin, se colocó el material vegetal en 200 mL de hexano y se dejó macerar por 48 horas, se procedió a filtrar y concentrar el extracto hasta sequedad empleando el rotaevaporador IKA RV 10 digital a 45 °C. Este procedimiento se repitió dos veces más. De la misma forma, se obtuvieron los extractos diclorometanoico y etanólico de la planta. Se recuperaron 1,8 g del extracto hexanoico (0,9 %), 2,11 g del extracto diclorometanoico (1,06 %) y 1,23 g del extracto etanólico (0,62 %).

Estudio fitoquímico preliminar

Para la caracterización química de los metabolitos secundarios presentes en los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico, de las partes aéreas de *L. japonicus* se efectuó una serie de pruebas químicas cualitativas siguiendo la metodología descrita por Marcano y Hasegawa (2002) [6].

Actividad antioxidante método DPPH

Todos los reactivos químicos utilizados, incluyendo los disolventes fueron de grado analítico. El reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) es de Sigma-Aldrich, el ácido ascórbico y metanol son de la marca Merck. Se utilizó un Espectrofotómetro UV-Visible Spectronic GENESYS TM 10 Bio, para evaluar el comportamiento de los extractos como agentes antioxidantes.

La evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*, se realizaron siguiendo el ensayo del test de actividad secuestrante de radicales libres del 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), según la metodología descrita por Goupy [7]; Molyneux 2004 [8]; Díaz y col., 2011 [9]; Plaza y col., 2014 [10] y Contreras-Moreno y col., 2017 [11].

Esta técnica consistió en preparar una solución stock de cada uno de los extractos, tomando 4 mg de cada uno, en tubos eppendorf y se disolvieron en 1mL de metanol, el ensayo se realizó por triplicado para cada uno de los extractos, para tal fin, se prepararon 3 tubos de cada uno, que contenían 700 µL de DPPH (6×10^{-2} mM) y 300 µL del extracto, se dejó en reposo en la oscuridad por 30 minutos. Pasado los 30 minutos se procedió a medir la absorbancia en el espectrofotómetro a 517 nm, con el extracto que presentó un porcentaje de inhibición (% I) del radical DPPH igual o superior a 50 %, se preparó una solución stock (1 mg/mL) y a partir de la misma se realizaron varias diluciones (0,75; 0,5; 0,2; 0,1; 0,05; 0,025 mg/mL) y se procedió a determinar la actividad antioxidante. Se realizó una curva patrón con ácido ascórbico, partiendo de una solución madre con una concentración de 1 mM (17,6 mg en 100 mL de metanol). El porcentaje de inhibición (% I) de radicales libres de DPPH•, se calculó mediante la siguiente ecuación: $\%I = [(A_{DPPH} - A_{Extracto}) / A_{DPPH}] \times 100$. En función de la

concentración del analito se calculó por regresión lineal para cada muestra la concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) [7, 10,11].

Estudio estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa IBM SPSS Statistic editor de datos, versión 21 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). Con la finalidad de determinar diferencias estadísticas en cada uno de los analitos, se realizó un análisis varianza (ANOVA) de una sola vía, como valores de media (n=3) y desviación estándar (SD).

Toxicidad sobre *Artemia salina*

La evaluación de toxicidad sobre nauplios (larvas) de *A. salina* del extracto etanólico de las partes aéreas de *Leonurus japonicus* Houtt., se realizó en el Departamento de Ciencias de Los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Este método estándar se basa en la determinación de la dosis letal 50 (DL₅₀), es decir, concentración que causa la muerte al 50 % de una población de nauplios, en 24 horas.

Reactivos.

Los reactivos utilizados para evaluar la toxicidad de los extractos frente a *Artemia* fueron: cloruro de sodio (NaCl), sulfato de magnesio hexahidratado (MgSO₄.6H₂O), cloruro de magnesio hexahidratado (MgCl₂.6H₂O), cloruro de potasio (KCl), bicarbonato de sodio (NaHCO₃), carbonato de sodio (Na₂CO₃), cloruro de calcio (CaCl₂) y dodecil sulfato de sodio, levadura comercial y quistes del crustáceo *A. salina*. En el desarrollo del bioensayo, primero se preparó una solución marina de aproximadamente 1000 mL (agua de mar artificial), que proporcionó las condiciones necesarias para el desarrollo de los nauplios de *Artemia*. Esta solución se mantuvo en aireación constante (burbujeo) 72 horas previas al bioensayo, con la finalidad de oxigenar la misma [12].

Eclosión de los quistes.

Al finalizar el tiempo de aireación de la solución marina (72 horas), se dividió la solución en dos recipientes (Fiolas) con 500 mL aproximadamente en cada uno, en una de las fiolas, se añadió alrededor de 250 mg de quistes, manteniendo una temperatura constante de 28 ± 2 °C por 48 h. La solución marina libre de nauplios, se utilizó como disolvente para preparar las

diferentes diluciones del extracto etanólico y llenado de las placas.

Desarrollo de la prueba

Se colocaron 130 µL de solución salina (aireada) en cada pozo de una placa de microtitulación, se agregaron a cada pozo 10 µL de solución que contenían entre 10 y 15 nauplios de *A. salina*, se le adicionó 10 µL de una solución de levadura comercial marca Fleischmann (5mg/mL) a cada pozo, se incubaron las placas en un área con iluminación permanente por 24 horas, para excitar su actividad metabólica. Se colocaron 50 µL del extracto etanólico, a distintas concentraciones (5, 25, 250, 750, 1250 y 2500 ppm). El extracto se diluyó en solución salina: DMSO (9:1). Cabe destacar que en esta prueba solo se analizó el extracto etanólico, debido a que los otros extractos mostraron dificultades en la solubilidad. Se incluyó, además, un grupo control negativo (con todos los elementos del ensayo, excepto la muestra a ensayar) y un grupo control positivo (Dodecil sulfato de sodio, DDSS 10 %) con seis réplicas para cada grupo. Se registraron el número de nauplios presentes inicialmente en cada pozo (NV), y al cabo de 24 h de contacto con los extractos se realizó el conteo del número de nauplios muertos (NM). Se calculó el porcentaje de letalidad mediante la ecuación, % de letalidad = $NM/NV \times 100$ [13]. Se determinó la dosis letal 50 (DL₅₀) con un intervalo de confianza del 95 %, utilizando para este fin el método de análisis Probit, utilizando el programa estadístico SPSS, 21.0 para Windows. Se clasificaron la DL₅₀ de los extractos evaluados según la toxicidad, tomando como referencia las recomendaciones el Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) [13].

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Tamizaje fitoquímico

Los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico de las partes aéreas (hojas, tallos y flores) de *L. japonicus*, fueron sometidos a evaluación química cualitativa [6], para determinar los principales tipos de metabolitos secundarios presentes en cada uno de los extractos (Tabla 1). El análisis fitoquímico preliminar reveló la presencia

de varios metabolitos secundarios de interés, detectándose en los extractos hexanoico y diclorometanoico la presencia de esteroides y en el extracto etanólico, alcaloides, esteroides, compuestos fenólicos y flavonoides.

Tabla 1.

Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos obtenidos a partir de las partes aéreas de *L. japonicus* Houtt.

Metabolitos secundarios	Reacción de coloración y/o precipitación	EH	ED	EE
Alcaloides	Dragendorff			+++
	Wagner			+++
	Mayer			+++
Esteroides	Lieberman-Buchard	++	+++	+++
Terpenos		-	-	-
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	-	-	+++
Taninos	Prueba de la gelatina			-
Flavonoides	Shinoda	-	-	+++
Saponinas	Prueba de la espuma	-	-	-
Cumarinas	Prueba NH ₄ OH/LUV	-	-	-
Quinonas	Prueba NH ₄ OH	-	-	-

+++ abundante, ++ moderado, + escaso. EH: Extracto hexanoico, ED: Extracto diclorometanoico; EE: Extracto etanólico.

Desde la década de 1990, *L. japonicus* ha sido investigada fitoquímicamente por varios grupos de investigación, lo que resultó en la identificación de más de 280 compuestos. Estos constituyentes químicos son principalmente monoterpenoides, sesquiterpenoides, diterpenoides, triterpenoides, esteroides, alcaloides, flavonoides y fenilpropanoides [5]. En nuestro estudio, realizado en los extractos de las partes aéreas de *L. japonicus*, solo se reportaron esteroides en el extracto hexanoico y diclorometanoico, y alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides y esteroides en el extracto etanólico.

La presente investigación difiere además de la realizada por Severina de Melo (2006) [14], quien al analizar las hojas y tallos de *L. japonicus*, indicó la presencia de flavonoides, saponinas y taninos en el extracto hidroalcohólico, mientras que, en nuestra investigación, no solo reportamos la presencia de flavonoides, sino también de alcaloides, compuestos fenólicos y esteroides en extracto etanólico (Tabla 1) y no se detectó la presencia de taninos ni saponinas. Por otra parte, Zachow (2016) [15], realizó un análisis fitoquímico de las partes aéreas de *Leonurus sibiricus* e indicó

la presencia de terpenos, esteroides y alcaloides en los extractos metanólicos.

La diferencia en cuanto a los componentes encontrados puede deberse a la parte de la planta que se analizó, factor muy importante en la producción de taninos, ya que el contenido de dichos metabolitos en el peciolo es diferente del que hay en la hoja [16]. Además, existe una alta correlación positiva entre la conductividad eléctrica y los diferentes tipos de metabolitos (fenoles totales, taninos condensados y taninos totales), se ha encontrado que mientras más elevada sea la concentración de sales solubles en el suelo se tiene una mayor conductividad eléctrica, o capacidad del agua para transportar la corriente eléctrica [17]. Hay que tener en cuenta que las concentraciones de metabolitos secundarios en una especie pueden variar en diferentes partes de la planta, con la ontogenia, y también puede depender de diversos factores ecológicos como cambios estacionales de luz, temperatura [18], humedad, nivel de nutrientes y presión osmótica [19,20, 21].

Según Waterman & Mole (1994) [22], el contenido de varios tipos de dichos metabolitos secundarios está influenciado por el genotipo de la planta (la especie y la variedad), las características ambientales (la radiación solar y la disponibilidad de agua), la velocidad de crecimiento, la madurez, la condición nutricional del suelo, la depredación y las enfermedades. Así mismo Harborn (1993) [23], afirmó que la aparición de los compuestos secundarios está relacionada con los mecanismos de defensa de la planta y los efectos del suelo y del clima.

Cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de *Leonurus japonicus* por el método Folin-Ciocalteu

En un estudio realizado por Altamirano y col (2007) [24], los autores indicaron que distintas especies pertenecientes a la familia Lamiaceae, sintetizan una gran cantidad de compuestos polifenólicos, los cuales presentan en su mayoría propiedades antioxidantes, además de actividad microbiciada, anti-inflamatoria y antitumoral, además afirmaron que estas actividades dependen directamente de la concentración de polifenoles y no de la actividad antioxidante total [25]; confiriéndole a las plantas pertenecientes a ésta familia, un gran potencial terapéutico. En este

estudio se determinó el contenido de polifenoles totales, del extracto etanólico de las partes aéreas de esta especie y en la Fig. 1. se muestra la curva de calibración del ácido gálico.

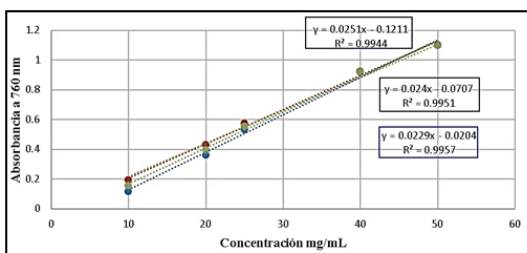


Fig. 1. Curva de calibración del ácido gálico

En la Fig. 1, se muestran las correspondientes ecuaciones de la recta ($y = 0.0251x - 0.1211$, $R^2 = 0.9944$; $y = 0.024x - 0.0707$, $R^2 = 0.9951$; $y = 0.0229x - 0.0204$, $R^2 = 0.9957$), que se emplearon para cuantificar el contenido total de fenoles en la muestra analizada. Los valores de absorbancia del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*, fueron reemplazados en la ecuación, pudiéndose determinar el contenido total de fenoles (Tabla 2).

Tabla 2.

Cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*

Extracto	[] mg/mL	Absorbancia 760 nm			[] µg AG/mg de extracto seco			[] µg AG/mg de extracto seco ± DE
		λ ₁	λ ₂	λ ₃	C ₁	C ₂	C ₃	
Etanólico	50	1,142	1,140	1,141	0,81	0,89	0,98	0,89 ± 0,07

AG = ácido gálico

No existen diferencias estadísticamente significativas entre datos ($p > 0,05$), con un nivel de confianza de 95 %.

En nuestro estudio la cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus* por el método Folin-Ciocalteu, mostró un promedio de $0,89 \pm 0,07$ µg AG/mg peso seco del extracto.

Ravipati y col. (2012) [26], evaluaron las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de 44 extractos de hierbas medicinales tradicionales chinas, con el fin de comprender la variación de las actividades antioxidantes de los extractos, estimaron las cantidades fenólicas totales de cada especie, obteniendo niveles fenólicos de $0,84$ µg de ácido gálico/mg (mg de ácido gálico/g), en el extracto etanólico de la especie *Leonurus japonicus*, resultando ser muy similar al contenido de polifenoles totales en el extracto etanólico de las

partes aéreas de *L. japonicus*, encontrado en nuestro estudio.

Por otra parte, Kim y col. (2012) [27], al investigar la capacidad de captación de radicales DPPH y el contenido de polifenoles totales en plantas naturales y medicinales coreanas, obtuvieron un contenido fenólico de $191,62$ mg/g (µg/mg), en el extracto etanólico de *L. japonicus*. Un contenido muy por encima al obtenido en nuestro estudio.

Según Van der Sluis y col (2001) [28], numerosos factores medioambientales como la luz o el grado de conservación, pueden afectar al contenido total de polifenoles, el clima (exposición al sol, precipitaciones) o factores agronómicos (diferentes tipos de cultivos, producción de fruta por el árbol) juegan un papel fundamental. La exposición a la luz, es en particular, uno de los principales condicionantes para determinar el contenido de la mayoría de estos compuestos. El grado de conservación cuando se encuentran presentes en los alimentos, puede también determinar el contenido de compuestos fenólicos, ya que son fácilmente oxidables. La conservación en frío, sin embargo, no afecta al contenido de los mismos.

Actividad antioxidante de los extractos de las partes aéreas de *Leonurus japonicus*, por el método DPPH.

En la Fig. 2, se muestra la curva de calibración del ácido ascórbico, y la ecuación de la recta con un R^2 de $0,9936$.

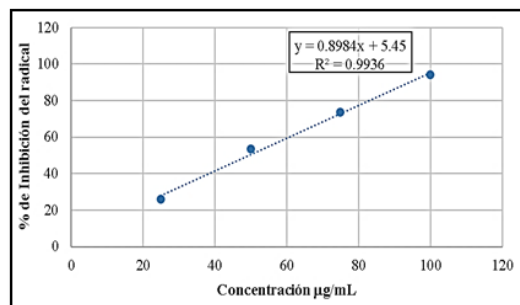


Fig 2. Curva de calibración del ácido ascórbico

La actividad antioxidante fue determinada mediante el método DPPH; previamente se realizó un barrido inicial con los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico, a una concentración de 4 mg/mL. Se observó que el extracto etanólico

de las partes aéreas de *L. japonicus*, mostró un % de inhibición de 92,9, siendo mayor de 50 %, lo cual indicó que tenía actividad antioxidante; mientras que los extractos hexanoico y diclorometanoico mostraron un % inhibición de 45,07 y 15,9 respectivamente, lo que mostró que no poseían actividad antioxidante significativa (Fig. 3).

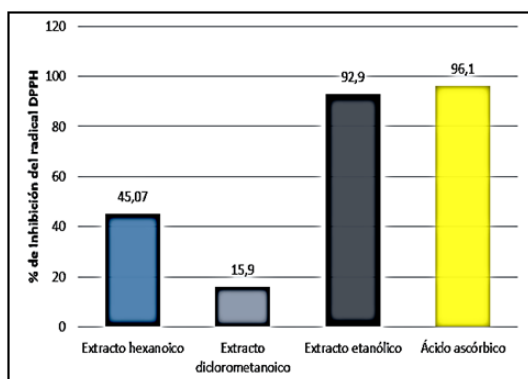


Fig 3. % de inhibición del radical DPPH de los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus* Houtt.a 4 mg/mL.

Posteriormente, se procedió a realizar la determinación de la actividad antioxidante al extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*. Se determinó que dicho extracto presentó un % de inhibición (% I) de $57,7 \pm 0,6$ a la concentración de 0,5 mg/mL, en comparación de 96,1 % del ácido ascórbico a una concentración de 0,176 mg/mL. En la Fig. 4, se muestran los resultados obtenidos, de las medias de cada una de las concentraciones evaluadas por triplicado.

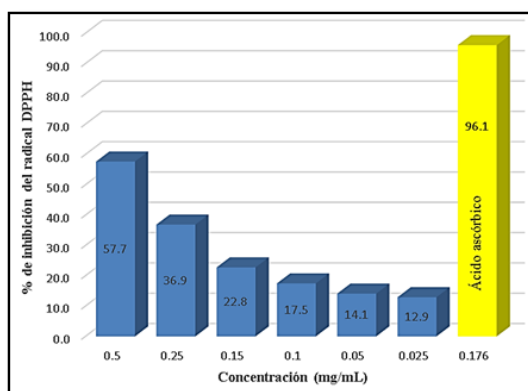


Fig. 4. Curvas de % I vs concentración del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*. Existen diferencias estadísticas significativas entre datos ($p < 0,05$), con un nivel de confianza de 95%, cada determinación se realizó por triplicado ($n = 3$).

Concentración eficiente 50 (mg/mL) ($n = 3$) del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*.

Brand y col. (1995) [29], indicaron que, a través del método DPPH, es posible evaluar la presencia de compuestos capaces de donar hidrógeno o secuestrar el radical que, después del equilibrio de la reacción, permite calcular la concentración eficiente del extracto y los estándares necesarios para reducir el 50 % del radical DPPH.

En el presente estudio, cabe aclarar, que la determinación de la concentración eficiente 50 (mg/mL) del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*, se calculó a partir de la ecuación de la recta $y = ax + b$, donde "a" es la pendiente; "b" la intersección de corte en la recta, $y = 50$ y $x = IC_{50}$. En la Tabla 3, se muestra los valores de IC_{50} ($n = 3$).

Tabla 3.

Concentración eficiente 50 (IC_{50}) del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*.

Recta	Pendiente	Corte	R ²	IC ₅₀ mg/mL	X IC ₅₀ mg/mL	DE
1	106,6500	0,9735	0,9960	0,460	0,457	0,01
2	108,0400	1,4932	0,996	0,450		
3	108,3200	0,170	0,992	0,460		

En promedio, la concentración eficiente 50 (IC_{50}) en mg/mL de la fracción etanólica de las partes aéreas de *L. japonicus*, para captar radicales libres es de 0,457 mg/mL. Esta investigación difiere a lo reportado por Severina de Melo (2006) [14], quien al realizar la determinación de la actividad antioxidante de *L. japonicus*, encontró que el extracto etanólico presentó un IC_{50} de 88,08 μ g/mL (0,088 mg/mL). Los componentes químicos predominantes en su estudio fueron los flavonoides y taninos, al contrario de nuestro estudio, donde reportamos la presencia de compuestos flavonoides y compuestos fenólicos, pero no se detectó la presencia de taninos; lo que podría explicar, la diferencia entre ambos estudios, ya que según Yokozawa y col. (1998) [30], flavonoides como la quercetina, rutina y isoquercetina, que han sido reportados en la especie *L. japonicus*, poseen en su estructura grupos ortohidroxilo en el anillo B, y está demostrado que el grupo ortohidroxilo puede considerarse la estructura más importante en

los flavonoides y los taninos para inhibir la actividad de los radicales libres.

Deng y col. (2013) [31], estudiaron las capacidades antioxidantes y el contenido de fenoles totales de los extractos lipofílicos e hidrofílicos de 56 especies vegetales comúnmente consumidas, entre ellas *Leonurus japonicus*; utilizando los métodos FRAP (poder antioxidante reductor férrico) y TEAC (capacidad antioxidante equivalente al Trolox). Los resultados mostraron que las capacidades antioxidantes y el contenido fenólico total en la fracción lipofílica fueron mayores que los de la fracción hidrofílica. Nuestro estudio no se puede comparar directamente con los resultados de estos investigadores ya que el método usado fue DPPH, diferente al reportado por Deng y col. (2013) [31], sin embargo, podemos decir que la correlación positiva entre la capacidad antioxidante y el contenido fenólico total indica que los compuestos fenólicos podrían ser uno de los principales contribuyentes a las capacidades antioxidantes de esta especie vegetal.

Evaluación de toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *Leonurus japonicus* sobre nauplios de *Artemia salina*

En la Tabla 4, se muestran los resultados promisorios del bioensayo de letalidad en *A. salina*, del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus* y los controles.

Tabla 4.

Cuantificación de la DL₅₀ del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus* y los controles sobre *A. salina*.

Extractos	DL ₅₀ (ppm)	Límite de confianza (95%) ppm		Categoría según el CYTED
		Límite inferior	Límite superior	
Partes aéreas	2913,55	-	-	Relativamente
DMSO	-	-	-	Inocuo
DDSS	28,026	23,372	33,507	Altamente tóxico

DL₅₀: Dosis letal 50; signo (-) valores muy altos; DMSO: Dimetilsulfóxido DDSS: Dodecil sulfato de sodio.

Basándonos en la clasificación de toxicidad según el CYTED y los intervalos de confianza allí establecidos, el extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*, es relativamente inocuo ya que la concentración a la cual murieron el 50 % de nauplios de *A. salina*, fue de 2913,55 ppm.

En la Fig. 5, se muestra el porcentaje (%) de letalidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus* sobre *A. salina* a las

concentraciones probadas en unidades de ppm ($\mu\text{g/mL}$).

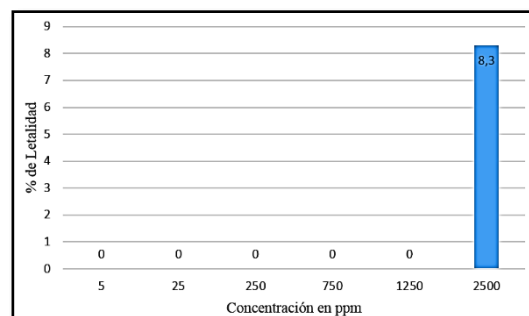


Fig. 5. Porcentaje (%) de letalidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus* sobre *A. salina* a las concentraciones probadas en unidades de ppm ($\mu\text{g/mL}$).

Con respecto al porcentaje de letalidad, el extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*, ocasionó el 8,3 % de mortalidad a la concentración más alta evaluada de 2500 ppm, lo que refleja los bajos niveles de toxicidad observados. A concentraciones inferiores de 2500 ppm hubo un 0 % de letalidad, como se muestra en la Fig. 5.

Dos Santos y col. (2010) [32], reportaron, utilizando los extractos metanólicos obtenidos a partir de las hojas y raíces de *L. sibiricus*, una DL₅₀ sobre *Artemia salina* de 657,2 $\mu\text{g/mL}$, mientras que, Saha y col (2012) [33], obtuvieron valores de DL₅₀ de 1,0 ppm ($\mu\text{g/mL}$) del extracto crudo de las hojas de *L. sibiricus* mientras que en el caso de la raíz fue de 2,0 $\mu\text{g/mL}$. Es decir, los extractos fueron altamente tóxicos para *A. salina*. Estas investigaciones, difieren de la nuestra y podría deberse principalmente a la concentración en la que se encuentren los metabolitos secundarios presentes en los extractos estudiados, ya que, según Jaramillo y col. (2016) [34], los alcaloides favorecen de manera significativa a la toxicidad aguda contra *A. salina*, mientras que a mayor contenido de polifenoles dicha toxicidad disminuye significativamente el nivel de toxicidad de las plantas. Por otra parte, Zhao y col (1999) [35], indicaron que las saponinas pueden ser letales para la *A. salina* incluso a bajas concentraciones. Cabe mencionar que en el extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus*, no se encontró presencia de saponinas, ni de taninos, esta podría ser una razón que nos permita explicar la baja toxicidad mostrada por el extracto etanólico de las partes aéreas de *L. japonicus* sobre *A. salina*, en nuestra investigación.

Además, la alteración de factores como el nivel de oxígeno, la temperatura y el valor promedio de salinidad, durante la realización del bioensayo, también puede influir en la toxicidad del extracto sobre los nauplios de *A. salina*. [35].

CONCLUSIONES

El estudio fitoquímico preliminar, de los extractos de las partes aéreas de *L. japonicus*, reveló la presencia de esteroides en los extractos hexanoico y diclorometanoico; y alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides y esteroides, en el extracto etanólico. El contenido de fenoles totales determinado en el extracto etanólico, fue de 0,89 µg AG/mg de extracto. Además, este extracto resultó ser el de mayor capacidad antioxidante, y a su máxima concentración de dilución, (0,5 mg/mL), mostró un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 57,7 en comparación de 96,1 del ácido ascórbico a 0,176 mg/mL, además, la concentración eficiente 50 (mg/mL) para captar radicales libres fue de 0,457 mg/mL, y en la prueba de toxicidad sobre *A. salina*, resultó ser relativamente inocuo sobre los nauplios, según la clasificación del CYTED, con un porcentaje de letalidad de 8,3 a 2500 ppm, y la DL₅₀ de 2913,55 ppm.

AGRADECIMIENTOS

Los autores reconocen y agradecen al Instituto de Investigaciones, Departamento de Ciencias de Los Alimentos y Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA. (Mérida, Venezuela), por el apoyo brindado en la realización de esta investigación, y al señor Emilio Salazar, por la colaboración prestada en la obtención de los extractos utilizados en esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Bekut M, Brkić S, Kladar N, Dragović G, Gavarić N, Božin B. Potential of selected Lamiaceae plants in anti (retro) viral therapy.

Pharmacological Research. 2018; 133 (X): 301–314.

[2] World Health Organization. WHO traditional medicine strategy: 2014-2023. [Acceso: 30 de Octubre de 2019]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/92455/1/9789241506090_eng.pdf?ua=1

[3] Velázquez D. Clave para los géneros de Lamiaceae en Venezuela. *Acta Botánica Venezolánica*. 1997; 20 (1): 1-42.

[4] Shang X, Pan H, Wang X, He H, Li M. *Leonurus japonicus* Houtt: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014; 152(1): 14-32.

[5] Miao L, Zhou Q, Peng C, Liu Z, Xiong L. *Leonurus japonicus* (Chinese motherwort), an excellent traditional medicine for obstetrical and gynecological diseases: A comprehensive overview. *Biomedicine y Pharmacotherapy*. 2019; 117(1): 1-18.

[6] Marcano D, Hasegawa M. Fitoquímica orgánica. 2da Edición. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico: Caracas, Venezuela, 2002.

[7] Goupy P, Hugues M, Boivin P, Amiot M. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *J. Sci. Food Agric*. 1999; 79(12):1625-1634.

[8] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J Sci Technol*. 2004; 26(2): 211-219.

[9] Diaz L, De Monjito S, Medina A, Meléndez P, Laurence V, Marti-Mestres G. Activity of ethanolic extracts leaves of *Machaerium floribundum* against acne-inducing bacteria, and their cytoprotective and antioxidant effects on fibroblast. *Rev. Per. Biol*. 2011; 18(2): 153–158.

[10] Plaza CM, Díaz L, Lücking RK, Viscaya M, Medina GE. Antioxidant activity, total phenols and flavonoids of lichens from Venezuelan Andes. *JPPRes*. 2014; 2(5):138-147.

[11] Contreras-Moreno B, Díaz L, Celis MT, Rojas J, Méndez L, Rosenzweig LP, Ontiveros J. Actividad antioxidante del aceite esencial de las hojas de *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Mill.)

J.W. Moore (Myrtaceae) de Táchira – Venezuela. *Ciencia e Ingeniería*. 2017; 38(3): 1-14.

[12] Plaza CM. Identificación y estudio de actividades biológicas de nueve especies de líquenes, colectadas en el estado Mérida. [Tesis de Doctoral], Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Postgrado en Química de Medicamentos. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela; 2015.

[13] Sánchez L, Neira A. Bioensayo general de Letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava*. L. y *Psidium guineense*. Sw. Fundación Universitaria Juan de Castellanos. 2005; 3: 40-45.

[14] Severina de Melo E. Estudio farmacognóstico e farmacológico de *Leonurus japonicus* Houtt. [Tesis de pregrado]. Universidad de São Paulo, São Paulo, Brasil; 2006.

[15] Zachow L. Extração, composição química e avaliação das atividades de inibição enzimática e antimicrobiana de *Leonurus sibiricus* L. [Tesis de maestría]. Universidad Federal de Santa María, Santa María, Brasil; 2016.

[16] Oncina RJM, Botía JA, Del Río & Ortuño A. Bioproduction of diosgenin in callus cultures of *Trigonella foenum-graecum* L. *Food Chemistry*. 2000; 70(4): 489- 492.

[17] Santacoloma L, Granados J. Interrelación entre el contenido de metabolitos secundarios de las especies *Gliricidia sepium* y *Tithonia diversifolia* y algunas propiedades físicoquímicas del suelo. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 2012; 3(1): 53-62.

[18] Chaves N, Escudero JC. Variation of flavonoids synthesis induced by ecological factors. In: Inderjit KMN, Dakshini FL, Chester eds. *Principles and Practices in Plant Ecology Allelochemical Interaction* CRC Press. Boca Raton, Florida; 1999.

[19] Waterman PG, Mole S. Extrinsic factors influencing production of secondary metabolites in plants. In E.A: Bernays ed. *Insect y Plant Interactions*. Vol 1. CRC Press, Boca Raton, FL; 1989.

[20] Waterman PG. Roles for secondary metabolites in plants, Chadwick and J. Whelan 8 ed. *Secondary Metabolites: Their Function and Evolution*. Jhon Wiley and Sons. New York; 1992.

[21] Dixon RA, Paiva NL. Stress induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*. 1995; 7: 1085-1097

[22] Waterman PG, Mole S. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Oxford, Reino Unido: Blackwell Scientific Publications; 1994.

[23] Harborne J. *Introduction to Ecological Biochemistry*. New York, EEUU: Academic Press; 1993.

[24] Altamirano N, Romano C, Repetto M, Abadi K, Moreno S. Bioactividades de compuestos polifenólicos no volátiles aislados de plantas Lamiaceae de Argentina. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2007 ; 6(6) : 319-320.

[25] Demmig B, Adams W. Antioxidants in photosynthesis and human nutrition. *Science*. 2002; 298(1): 2149-2153.

[26] Ravipati A, Zhang L, Koyyalamudi S, Jeong S, Reddy N, Bartlett J, Smith P, Shanmugam K, Münch G, Wu M, Satyanarayanan M, Vysetti B. Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with antioxidant content. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012; 12(1):1-14.

[27] Kim E, Choi J, Yu M, Kim M, Lee S, Lee B. Total Polyphenols, Total Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of Korean Natural and Medicinal Plants. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 2012; 4(33): 337-342.

[28] Van der Sluis A, Dekker M, De Jager A, Jongen W. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001; 49(8): 3606-3613.

[29] Brand W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 1995; 28(1): 25-30.

[30] Yokozawa T, Chen C, Dong E, Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Radical Biochemical Pharmacology*. 1998; 56(1): 213-222.

[31] Deng G, Lin X, Xu X, Gao L, Xie J, Li H. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *Journal of functional foods*. 2013; 5(1): 260-266.

[32] Dos Santos Júnior HM, Oliveira DF, De Carvalho DA, Pinto JMA, Campos VAC, Mourão ARB, Costa-Lotufo LV. Evaluation of native and exotic Brazilian plants for anticancer activity. *Journal of Natural Medicines*. 2010; 64(2): 231–238.

[33] Saha M, Bari F, Rahman M, Islam M. In Vitro Cytotoxic and Anthelmintic Activities of Leaf and Root Extracts of *Leonurus sibiricus* L. *Journal of Scientific Research*. 2012; 4(3): 721-727.

[34] Jaramillo C, D'Armas H, Troccoli L, Rojas L, Jaramillo A. Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. *Revista de Biología Tropical*. 2016; 64(3): 1171-1184.

[35] ZhaoW, Qin G, Lou L. Evaluation of toxicity of some saponins on brine shrimp. *Journal of Asian Natural Product Research*. 1999; 1(1): 307-311.

[36] Eslava P, Wedler E, Serna D. Caracterización y criterios de eclosión de quistes de *Artemia sp.*, en la salina de pozos colorados (Santa Marta, Colombia). *Revista del Instituto de Investigaciones Tropicales*. 2011; 6(1): 101-108.

NORMAS EDITORIALES

La Revista de la Facultad de Farmacia (Rev Fac Farm) es una publicación editada por la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, Mérida, República Bolivariana de Venezuela. La revista es arbitrada e indizada y tiene como objetivo publicar Trabajos Originales (inéditos producto de estudios terminados), Revisiones, Reporte de Casos Clínicos, Comunicaciones y Cartas al Editor, que versen sobre las siguientes áreas del conocimiento: Etnobotánica, Química Orgánica, Química Inorgánica, Química Analítica, Química Medicinal, Fitoquímica, Ciencias de los Alimentos, Galénica, Tecnología Industrial, Análisis de Medicamentos, Física, Fisicoquímica, Estadística Aplicada a las Ciencias de la Salud, Microbiología, Parasitología, Inmunología, Hematología, Farmacología, Toxicología, Fisiología, Farmacocinética, Mercadotecnia, Historia de la Farmacia y Bioanálisis, Farmacognosia, Nutrición en Salud Pública y Biotecnología. Los manuscritos deben ser concisos, correctos en su estilo y escritos en idioma español, inglés o portugués. El Comité Editorial (CE) tiene prevista la publicación de un volumen y dos números al año, con la extensión que se estime conveniente.

ENVÍO DEL MANUSCRITO

Los autores deben enviar el archivo del manuscrito en programa "Word for Windows" a través de los siguientes correos: revfarm@ula.ve o revfarm@hotmail.com. Es necesario que el autor principal envíe una comunicación al Editor, en donde solicita la consideración del material adjunto para la publicación en alguna de las secciones de la Revista, con indicación expresa, de tratarse de un trabajo original, de no haber sido publicado excepto en forma de resumen y que sólo ha sido enviado a la Revista de la Facultad de Farmacia. Además, debe incluir la autorización, donde todos los autores aceptan con su firma, que han participado activamente en el desarrollo y ejecución de dicha investigación, y que conocen que está siendo enviado a publicación sin percibir remuneración alguna.

SISTEMA DE ARBITRAJE

Todos los trabajos serán sometidos a consideración del CE de la Revista, el cual decidirá si el trabajo debe ser enviado a arbitraje o es devuelto por no cumplir con

las normas editoriales establecidas. El arbitraje de doble ciego será realizado por al menos tres expertos en el área objeto de la comunicación. Se cuenta con la participación de especialistas, provenientes de diferentes instituciones locales, nacionales, así como internacionales. En caso de existir sugerencias por parte de los evaluadores para mejorar la calidad de los trabajos, serán devueltos a sus autores para las debidas correcciones, las cuales deben cumplirse, siendo posible apelar con la debida justificación en cada caso. Para facilitar el proceso de arbitraje, los autores deberán enviar una lista de seis posibles árbitros (Nacionales e Internacionales) con sus respectivas direcciones, y de ser posible, direcciones de correo electrónico.

NORMAS EDITORIALES

Los textos deben estar compuestos por las siguientes secciones:

Revisiones

Según los criterios establecidos por el CE, para incluir revisiones en la Revista de la Facultad de Farmacia se debe cumplir con las siguientes condiciones:

- Al menos uno de los autores debe tener un mínimo de tres trabajos sobre el tema, publicados en revistas indexadas y arbitradas y por lo menos una de esas revistas debe ser Tipo A.

- Las revisiones pueden ser solicitadas al autor (es) por el CE o propuestas por el autor (es) al CE, sobre temas seleccionados. Estructura: Resumen, palabras clave, abstract, key words, introducción, cuerpo o desarrollo, conclusión (es), referencias bibliográficas, de acuerdo a las mismas instrucciones de los trabajos originales.

Trabajos originales

Se le da prioridad a los artículos originales.

Estructura: Resumen, palabras clave, abstract, key words, introducción, material y métodos, resultados, discusión, conclusión (es), agradecimientos (precindible) y referencias bibliográficas.

Artículo original

Título centrado. Escribir sólo la primera palabra con inicial en mayúscula. Nombres científicos en *letra cursiva*. Tipo y tamaño de letra: Times New Roman en negrita, 18. No utilizar más de cuatro líneas. Finalizar con punto (.)

Type the title of this paper centred. Capitalize only the first letter of the first content word. Scientific names are set in *italics*. Font type & size: Times New Roman, Bold, 12. Do not use more than three lines. Finish with a period (.)

Apellido Nombre¹, Apellido Nombre Nombre², Apellido-Apellido Nombre², Apellido-Apellido Nombre Nombre^{3*}.

¹Nombre del departamento, instituto u otra dependencia, nombre de la facultad u otra institución, nombre de la universidad u otra organización, lugar, ciudad y código postal, país. ²Afiliación del segundo y tercer autor. ³Afiliación del cuarto autor.

Recibido: enero de 20¿? – Aceptado: febrero de 20¿?

RESUMEN

No debe exceder de 250 palabras estructurado en un párrafo único. Debe indicar (i) objetivos, (ii) materiales y métodos, (iii) resultados relevantes u observaciones originales, (iv) las conclusiones principales y/o (v) el alcance de la investigación. No debe contener referencias. La mayor parte del resumen debe escribirse en tiempo pasado, ya que los autores se están refiriendo a los resultados obtenidos. Ejemplos:

- (i) El tiempo requerido para la derivatización resultó inusualmente rápido (< 1 min);
- (ii) La señal de respuesta fue evaluada utilizando la fluorescencia del producto derivatizado;
- (iii) El rendimiento fue máximo en el intervalo de pH 9,0-10,5.

Cuando una expresión larga se utiliza varias veces en el resumen es conveniente abreviarla. Sin embargo, es recomendable omitir siglas y abreviaturas poco conocidas.

Utilizar la presente plantilla compatible con Word 1997-2003 o superior para redactar el manuscrito. La edición de cualquier manuscrito resulta más fácil siguiendo el estilo de formato de esta plantilla. Complementariamente, se incluyen los tipos de figuras, fotografías y tablas para facilitar la incorporación de cualquiera de ellas en la plantilla. En el formato descrito se incorporan los márgenes de página, ancho de las columnas, interlineado, estilos de letra, entre otros. Especial cuidado se debe conservar en la estructuración de las tablas siguiendo los ejemplos dados. Datos adicionales para redactar el manuscrito se suministran en la sección de la introducción.

PALABRAS CLAVE

Escribir de 3 a 10 palabras clave o frases cortas que ayuden a la clasificación del artículo. Separar con comas y finalizar la última con punto final. Escribir la primera palabra con inicial en mayúscula y el resto de palabras comenzarlas con minúscula, excepto nombres científicos y acrónimos.

Uso y abuso de mayúsculas. La primera palabra del nombre latino de las especies vegetales y animales se escribe en mayúscula: *Equisetum giganteum*, *Leishmania donovani* (los nombres científicos latinos deben escribirse, además, en cursiva). Se escriben también con mayúscula los nombres de los grupos taxonómicos zoológicos y botánicos superiores al género (familia, orden y clase) cuando se usan en aposición (el segundo describe al primero): el orden Equisetales agrupa el mayor número de especies de la clase Equisetopsida pertenecientes a la familia Equisetaceae; pero estos mismos términos se escriben con minúscula cuando se usan como adjetivos o como nombres comunes: la cola de caballo es un equisetal, planta sin flor; en el Jardín Botánico de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la ULA hemos tenido una buena cosecha de equisetáceas [1].

Uso de mayúsculas y minúsculas. Algunas siglas y algunos acrónimos se escriben enteramente en mayúscula. Las siglas son abreviaciones que utilizan las letras iniciales de las palabras a las que representan, como: ISBN, IVSS, OTI u ONG. Los acrónimos son abreviaciones formadas por la concatenación de elementos de dos o más palabras, como: teleserie. También son acrónimos las siglas que se pueden pronunciar como una palabra, como OTAN u OVNI. En cambio, los acrónimos que el uso ha convertido

en sustantivos comunes se escriben en minúsculas, como: láser y radar. Cuando los acrónimos son nombres propios y tienen más de cuatro letras, solo se escribe en mayúscula la inicial: Unicef, Unesco, entre otros. Los acrónimos y siglas no necesitan punto (es correcto ONU), excepto los plurales de acrónimos y siglas, tales como: varios autores (VV.AA.) o Estados Unidos (EE.UU.). Los símbolos o abreviaciones de carácter científico-técnico no llevan punto al final, ni deben cambiarse por mayúsculas y tampoco se pluralizan, tales como los siguientes: “kg” por kilogramo, “N” por norte (punto cardinal), “€” por euro, “Fe” por hierro (símbolo del Sistema Periódico), entre otros.

Los nombres comunes genéricos que acompañan a los nombres propios geográficos (ciudad, río, mar, océano, sierra, cordillera, cabo, golfo, estrecho, entre otros) deben escribirse con minúscula: la cordillera de los Andes. Solamente si el nombre genérico forma parte del nombre propio, se escribe con mayúscula inicial: Sierra Nevada.

Los nombres de edades y épocas históricas se escriben con mayúscula: “Los primeros fósiles claramente asignables al linaje de las equisetáceas son del Eoceno, pero el género puede extenderse hasta el Pérmico, hace más de 300 millones de años”.

Los nombres o marcas comerciales se escriben con mayúscula y sus nombres genéricos en minúscula: Un fármaco de la familia de los aminoglucósidos es amikacina, conocido inicialmente por su marca registrada Amikin, el primero es el nombre genérico o DCI y el segundo es el nombre comercial acuñado por la Compañía Bristol-Myers Squibb. Marcas registradas de bebidas, productos o equipos se identifican con inicial en mayúsculas: Frescolita: (refresco), Mennen (cosmético), Perkin (equipo de laboratorio) [2].

En caso de dudas, es práctico consultar los diccionarios de la Nueva Gramática de la Lengua Española o las Normas de la nueva edición de la Ortografía de la Lengua Española, de acceso gratuito en Internet.

ABSTRACT

Su contenido deberá ajustarse a lo planteado en el resumen. Sin embargo, esto no significa una traducción palabra por palabra, más bien la idea es lograr la transferencia de pensamientos e ideas de un idioma a otro. Los programas diseñados para traducciones automáticas no sirven para este fin. La traducción automática es un elemento de gran apoyo para las traducciones de tipo técnico, pero no se debe prescindir de la percepción humana. Si el autor no posee la suficiente experticia en el idioma inglés es importante consultar con un especialista ya que esta revista es de acceso gratuito a nivel global vía Internet.

KEY WORDS

Escribir de 3 a 10 palabras clave o frases cortas que ayuden a la clasificación del artículo. Debe ser la traducción de las escritas en español. Escribir la primera palabra con inicial en mayúscula y las subsiguientes comenzarlas con letra minúscula, considerando las excepciones. Separar con

comas y finalizar la última con punto.

INTRODUCCIÓN

La sección introductoria contendrá esencialmente aspectos generales, incluyendo finalmente los objetivos claros y concisos. El total de la introducción no debe exceder de dos páginas y media siguiendo el presente formato. Esta sección debe proporcionar suficientes antecedentes para que el lector pueda comprender sobre qué trata el tema y el estado actual del conocimiento. Debe dejar claro cuál es el problema que se estudia.

Cada conocimiento atribuido a otros autores debe acompañarse de su respectiva referencia. Los autores deben suministrar suficientes referencias sobre el tema, pero tratar en lo posible de no repetir las mismas referencias que aparecen en los artículos de revisión. La declaración de novedad del trabajo debe ir acompañada de una amplia revisión; cuando se utilizan herramientas electrónicas de búsqueda es necesario consultar diferentes plataformas, no basta con acceder a solo a una de ellas, ya que éstas suelen agrupar solamente a las editoriales de revistas que sufragan una suscripción. No necesariamente una plataforma de búsqueda de primer impacto compila las revistas de la especialidad de su trabajo.

No incorporar subtítulos en esta sección. Tampoco incorporar viñetas, numeración, lista multinivel y aumentar o disminuir sangría. La presente introducción no cumple con algunas de estas exigencias con la finalidad de facilitar la lectura.

La mayor parte de la introducción debe redactarse en tiempo presente porque en esta sección se describen los conocimientos ya divulgados y dados como conocidos. Ejemplos:

(i) La amikacina (AMK) es un antibiótico de amplio espectro sintetizado a partir de la kanamicina [Ref #].

(ii) La estructura de la AMK carece de grupos cromóforos lo cual dificulta su detección mediante espectrofotometría de absorción molecular UV/Vis [Ref #, Ref #].

(iii) En este artículo se propone un nuevo método basado en la espectrometría de absorción molecular infrarroja con transformadas de Fourier (IRTF) para la determinación directa de AMK en productos farmacéuticos [Ref #-Ref #].

El autor es libre de escribir la introducción en el orden que mejor le parezca, sin embargo siempre es conveniente seguir un mismo patrón, tal como lo sugieren algunos documentos especializados como el de Day (2005) [3].

(i) Describir brevemente el “sujeto” del “objetivo” de la investigación.

(ii) Describir concisamente la naturaleza de la investigación

(iii) Definir el problema de manera que capte la atención del lector. xponer la razón por la cual se está

realizando la investigación.

(iv) Discutir el problema, describir posibles limitaciones de la propuesta y suministrar el alcance de la investigación.

(v) Revisar las publicaciones pertinentes para establecer el vacío existente y de esa manera justificar la propuesta del autor.

(vi) Describir lo que se ha hecho con anterioridad para resolver el problema citando solo las referencias realmente relevantes o pertinentes.

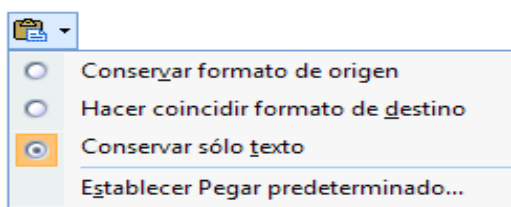
(vii) Establecer cualquier relación del trabajo propuesto con los antecedentes y como difiere de éstos.

(viii) Indicar si el trabajo propuesto está relacionado con trabajos previos de los mismos autores (con la cita correspondiente).

(ix) Por la ética que se debe conservar como investigador, es importante no ocultar la publicación (o en vía de publicación) de artículos estrechamente relacionados.

(xii) Esta sección debe finalizar estableciendo claramente lo que se propone como “innovador”, “modificación y mejoramiento de algo existente” o “aplicación” de la investigación y exponiendo brevemente la metodología a seguir para alcanzar el fin.

Formato de página. La memoria del formato de página, texto, tablas y figuras puede consultarse en la Tabla 1 para facilitar la edición de cualquier manuscrito. No obstante, esta plantilla puede usarse para descargar automáticamente cualquier manuscrito usando la opción de pegado de Microsoft Word. Luego de pegar, seleccionar la opción “conservar sólo texto” con la finalidad de no modificar el estilo de esta plantilla.



El encabezado de la primera página es diferente al de las siguientes páginas. No obstante, el cambio ocurre de manera automática a partir de la segunda página; del mismo modo, ocurre con el pie de página. Cuando suceda un salto de párrafo dejando un espacio en blanco, corregir siguiendo el procedimiento: seleccionar la línea donde ocurre el salto y cortar el espacio seleccionado. Cuando ocurre un salto de una columna a otra es necesario suprimir la justificación de corte de líneas y saltos de página “Control de líneas viudas y huérfanas:



TABLA 1

Guía para mantener constante el formato de página.

Parámetro	Variable	Descripción	
Papel	Tamaño	carta	
Columnas	Nº (Espacio entre columnas)	2 (0,7 cm)	
Margen	Superior e inferior	2,5 cm	
	Izquierdo página impar	2,4 cm	
	Derecho página impar	2,4 cm	
	Derecho página par	2,9 cm	
	Encuadernación página impar	0,5 cm	
	Encuadernación página par	0,0 cm	
Párrafo	Líneas y saltos / Paginación / Control de líneas viudas y huérfanas	Justificado	
	Sangría y espacio / General / Alineación	Justificada	
	Sangría y espacio / General / Nivel de esquema / Texto	Independiente	
	Sangría y espacio / Sangría Izq.	0 cm	
	Sangría y espacio / Sangría Der.	0 cm	
	Sangría y espacio / Especial: Primera línea / En:	0,5 cm	
	Espaciado Anterior	0 pto	
	Espaciado Posterior	0 pto	
	Espaciado Interlineado: Múltiple. En:	1,15	
	Espacio entre párrafos del mismo estilo: no agregar.	No justificado	
	Encabezado de Tablas y Figuras, texto interior y pie de página	Espaciado Anterior	0,2 línea
		Espaciado Posterior	0,2 línea
Espaciado Interlineado: exacto. En:		10 pto	
Espacio entre párrafos del mismo estilo:		No justificar	
Nº de Página	Página impar (Nº a la derecha)	Grande 1	
	Página par (Nº a la izquierda)	Grande 2	
Ancho de los bordes de las filas	Externas	1 pto	
	Separadora del encabezado	1 pto	
	Internas	½ pto	
Ancho de los bordes de las columnas	Exteriores	1 pto	
	Interiores	½ pto	

NB: El formato de esta tabla se puede copiar para crear otra de acuerdo a las particularidades de cada manuscrito. Utilizar el formato de escritura de esta nota para cualquier observación a pie de la tabla

Los lineamientos descritos en esta plantilla relacionados con el formato del encabezado y pie de página son orientativos para la edición de la versión final del manuscrito y no debe preocupar al autor. Igualmente, la mayor parte de la información suministrada en las Tablas 1 y 2 no debe preocupar al autor si éste opta por la opción de usar como modelo las tablas de la presente plantilla.

Uso de abreviaturas. Antes de introducir una abreviatura al libre albedrío es recomendable consultar las diferentes plataformas de búsqueda para utilizar la apropiada. También es recomendable consultar las reglas y convenciones sobre tipos de magnitud y unidades sugeridas por las organizaciones internacionales, tales como BIPM, IUPAC e ISO.

Lista de algunas observaciones útiles en la redacción científica relacionadas con las abreviaturas:

(i) No comenzar las oraciones con abreviaturas. Incorrecto: E. giganteum. Correcto: *Equisetum giganteum*. Incorrecto: "Fig. 1 muestra el incremento". Correcto: "Figura 1 muestra el incremento".

(ii) No comenzar las oraciones con un número. Incorrecto: "12 fue el pH idóneo". Correcto: "Doce fue el pH idóneo".

(iii) Abreviar las unidades de medida cuando están precedidas de dígitos. Correcto: "La muestra pesó 5 mg". Incorrecto: "la muestra pesó cinco (5) miligramos". Correcto: "Sucedió en el 30 % de los casos". Incorrecto: "Sucedió en el 30 por ciento de los casos". No abreviar las unidades de medida cuando se usan como sustantivos. Incorrecto: "El peso se expresó en mg". Correcto: "El peso se expresó en miligramos". Incorrecto: "Se obtuvo un % bajo". Correcto: "Se obtuvo un porcentaje bajo".

(iv) No usar los símbolos <, >, # y & para abreviar sustantivos. Incorrecto: "La fluorescencia es < en medio acuoso". Correcto: "La fluorescencia es menor en medio acuoso".

(v) Representar los números con palabras cuando se componen de un solo dígito. Incorrecto: "4 muestras". Correcto: "Cuatro muestras". Excepción: cuando al menos un número en la oración tiene dos o más dígitos. Incorrecto: "Las muestras fueron tres tabletas, ocho cápsulas y 15 ampollas". Correcto: "Las muestras fueron 3 tabletas, 8 cápsulas y 15 ampollas". Otras excepciones: cualquier número se representa con dígitos cuando están acompañados de unidades de medida (2 mL o 20 mL) y cuando se usan para expresar horas (08:00) y fechas (15/02/2013). En relación a las fechas y horas es recomendable utilizar la norma ISO 8601 debido al carácter internacional de la revista. La referida norma facilita la migración entre distintas plataformas. La fecha y la hora están organizadas desde el más hasta el menos significativo. Cada valor tiene un número fijo de dígitos que debe ser completado con ceros. Por ejemplo, para especificar la fecha 5 de marzo de 1965, escribiremos en esta notación: "1965-03-05" (aaaa-mm-dd). Este consejo es imprescindible para evitar ambigüedades. Se recomienda el sistema de 24 horas frente al de dos mitades de 12 horas. Por ejemplo, la notación "6:30:5 p.m." debería ser escrita "18:30:05" (hh:mm:ss).

Uso y abuso de letra cursiva. El autor debe utilizar letras cursivas (o itálicas) sólo para enfatizar partes importantes del texto, generalmente una palabra o frase corta. También para

escribir:

- (i) nombres científicos,
- (ii) nombres de títulos de publicaciones (libros, revistas, periódicos),
- (iii) nombres propios,
- (iv) palabras extranjeras,
- (v) palabras mal escritas a propósito,
- (vi) iniciales o abreviaturas al final de una "nota",
- (vii) locuciones latinas, entre otras. Extranjerismos.

Uso de extranjerismos o palabras cuya traducción no refleja exactamente lo mismo en español. Por ejemplo, es válido substituir:

- (i) "reportar" por divulgar o publicar.
- (ii) "rango", aunque válido, por "intervalo".
- (iii) "performance" por "desempeño", "comportamiento", entre otros, dependiendo de lo que se desea expresar en el idioma castellano (más versátil que el inglés).

Normas de nomenclatura. Se recomienda a los autores tener en cuenta las Normas Internacionales de Nomenclatura, tanto para la escritura de especies químicas, plantas, microorganismos y parásitos; como en símbolos, unidades y abreviaturas. Varios ejemplos ya fueron expuestos en esta plantilla.

Complemento sobre el uso de mayúsculas.

(i) Palabras principales en títulos de libros y artículos dentro del texto de un artículo. Ejemplo: En el libro *Química Analítica Cuantitativa* ... (ii) Palabras principales en títulos de artículos dentro del texto de un artículo. Ejemplo: La noticia trata sobre "La Actividad Antimicótica de un Quelato de Titanio", el cual ... (iii) Solamente la primera palabra en título de tablas y leyendas de figuras del mismo artículo. Ejemplos: Procesos infecciosos, Grupos etarios, Tipos de anticonceptivos. (iv) Cuando se hace referencia a secciones del mismo artículo. Ejemplo: tal como se explica en la sección Resultados. (v) Nombre de revistas, periódicos y otros relacionados. Ejemplos: Revista de la Facultad de Farmacia, El Universal, El Rincón del Vago. (vi) Sustantivos seguidos de numerales o letras. Ejemplos: Como se muestra en la Tabla 2, Capítulo 2, Optimización 2, Variables A1 y B2. (vii) Nombre de un instrumento. Ejemplo: el Espectrofotómetro IRTF. (viii) Nombre de un test. Ejemplo: Ensayo de la USP. (ix) Los términos factor, variable o efecto cuando van seguidos de un numeral. Ejemplos: ... Factor 2, ... Variables 3 y 5, ... Módulo 1. (x) Efectos o variables cuando aparecen con un signo de multiplicación. Ejemplo: la interacción Temperatura x Buffer x Concentración [4].

Complemento sobre la escritura de números. Se escriben con palabras: (i) Los que comienzan una oración. (ii) Los menores de 10 (ejemplo: los primeros dos procedimientos). (iii) Las fracciones comunes (ejemplo: un tercio de los resultados). (iv) Se escriben con números: los números 10 y mayores. (v) Los que aparecen en el Resumen y Abstract, en tablas y figuras. (vi) Los números menores a 10 que aparecen en una secuencia donde también aparecen números mayores a 9 (ejemplo: los valores de pH resultaron 7, 8 y 10). (vii) Los que preceden a una unidad de medida

(ejemplo: una dosis de 2 µg/mL). (viii) Los que representan funciones estadísticas, cantidades fraccionales o decimales, porcentajes, razones, percentiles, deciles y cuartiles (ejemplos: $F(2, 40) = 3,15$; multiplicado por 5; 7,3; 3 veces mayor (proporción); más del 7% de la muestra; una razón de 10:1; el percentil 5). (ix) Los que representan tiempo, fecha, edad, puntajes y puntos en una escala, suma exacta de dinero (ejemplos: 2 horas 40 minutos, 3 años 2 meses, a las 5:30 PM, los participantes que tuvieron 4 puntos o más en una escala de 7 puntos). Excepción: aproximación de años, meses y días (ejemplo: hace cinco años atrás). (x) Los que denotan un lugar específico en una serie numerada, partes de libros y tablas (ejemplos: Tabla 5, línea 6) [4]

Uso de guión corto. (i) Para separar palabras. Ejemplo: Es un hallazgo teórico-práctico o (ii) Para separar número de páginas, sin dejar espacio. Ejemplo: pp. 123-145.

Solicitud a los autores. Para facilitar el proceso de arbitraje, los autores deberán enviar una lista de seis posibles árbitros (nacionales e internacionales) con sus respectivas direcciones, y de ser posible, direcciones de correo electrónico. Por razones de ética, éstos no deben guardar o haber guardado relación de trabajo científico con los autores.

Numeración de secciones del manuscrito. El formato de esta revista no amerita recurrir a numeración de secciones (1.- INTRODUCCIÓN, 2.- MATERIAL Y MÉTODOS, etc.) y tampoco para separar partes de las subsecciones. En caso de ser necesario la inclusión de subsecciones, substituir por un subtítulo en negrita (sin justificar cursiva) finalizado en punto y continuar en la misma línea con la descripción del subtítulo, tal como se transcribe el presente párrafo.

Prueba de galera. El tiempo máximo para responder a la prueba de galera, será de 72 horas hábiles después de acusar recibo, y no habrá fe de erratas posterior. En caso de que el autor no responda en ese lapso, el trabajo corre el riesgo de ser publicado en el número subsiguiente, siempre y cuando se hagan las correcciones solicitadas.

Responsabilidades del autor. Los autores son responsables por el contenido de sus artículos, por la veracidad y asignación correcta de sus citas. La apropiación de ideas o frases de otros artículos, presentados como trabajo original y sin citar la fuente, constituye una forma de plagio. Tal como es conocido, cualquier información científica de artículos inéditos puede mencionarse acompañada de la respectiva cita, sin embargo, la utilización de datos o reproducción de cualquier otro material podría ameritar un permiso. En este último caso, los autores tienen la responsabilidad de obtener autorización escrita para poder usar material textual sujeto a las leyes nacionales o internacionales que protegen los derechos de autor, sobre todo cuando las fuentes establecen prohibición de reproducción total o parcial del artículo. El autor debe remitir junto con el manuscrito el permiso escrito. La autoría de figuras, gráficos, fotos, entre otros, debe ser mencionada en el título de cada figura.

Responsabilidad ética del autor. El manuscrito sometido a consideración para su publicación no debe ser sometido a evaluación simultáneamente en otra revista periódica o medio de publicación impreso o electrónico. El contenido del manuscrito, en parte o en su totalidad, tampoco debe haber sido publicado previamente en otro medio de divulgación impreso o electrónico. Después de que un manuscrito ha sido aceptado para su publicación, enviado a la imprenta y publicado en línea no debe retirarse; en caso de cometer deliberadamente esta acción, los autores incurrirían en dos delitos, por una parte, en la falta de ética y en segundo lugar, en la violación de los derechos de reproducción o copyright, que en general, son cedidos por los autores a la revista que publica su artículo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Esta sección debe dejar claro cómo se estudió el problema y suministrar suficiente evidencia para su repetición. Los autores deberán nombrar materiales y equipos, señalando marca y modelo, seguidos de ciudad y país, separados por una coma y escritos entre paréntesis. El nombre de cada país debe transcribirse en español, “Alemania” en lugar de “Germany”, “EE.UU.” en lugar de “USA”, entre otros.

Los estudios realizados en seres vivos deben indicar la descripción del material utilizado, de acuerdo con el tratado de Helsinki y siguiendo las normas de Bioética y Bioseguridad del Ministerio de Ciencia y Tecnología de cada país.

El consentimiento de los participantes o de sus representantes para utilizar los datos obtenidos en el estudio debe quedar registrado. El uso de nombres, iniciales o número de historias de los centros de salud debe evitarse en lo posible.

Una descripción breve de los procedimientos empleados para la consecución de los objetivos siempre debe suministrarse, de manera tal, que cualquier investigador competente, en cualquier parte del mundo, pueda reproducir la parte experimental. En lo posible se debe evitar transcribir datos que luego se repiten en la sección de Resultados.

Las técnicas y métodos ampliamente conocidos pueden simplemente nombrarse, seguidos de la cita bibliográfica correspondiente. Si un método fue modificado para adaptarlo o mejorarlo se debe suministrar detalles de cuáles fueron los cambios o innovaciones. En la descripción se puede incluir brevemente detalles: “la fase móvil se desgasificó durante 15 min por tratamiento ultrasónico, como se ha descrito anteriormente” [Ref #]; en lugar de indicar simplemente, “la fase móvil se desgasificó como se ha descrito anteriormente” [Ref #].

El análisis estadístico utilizado debe especificarse en el manuscrito cuando se trabaja con organismos vivos o

cuando éste se requiere para la comparación de resultados. Los métodos estadísticos conocidos deben utilizarse sin descripción alguna. El tipo de programa de computación utilizado para el procesamiento de los datos debe quedar registrado.

Esta sección debe redactarse en tiempo “pasado”, ya que en ésta se escribe lo que los autores concibieron, diseñaron y sobre todo cómo obtuvieron los resultados [3]. Ejemplos:

(i) El efecto del pH del medio sobre la derivatización de AMK fue examinado utilizando soluciones amortiguadoras de diferente naturaleza (Tabla #).

(ii) Las condiciones óptimas de derivatización de AMK con AQC, previamente seleccionadas, fueron examinadas a diferentes temperaturas (Tabla #).

(iii) La señal de respuesta se registró en términos de la intensidad de emisión de AMK-AQC bajo las condiciones experimentales seleccionadas (Tabla #).

No comenzar la descripción de material y métodos con un “gerundio” [3], como en la frase: “Manejando un cromatógrafo de columna para trabajo en fase líquida se separó AMK de sus impurezas”; mejor: “La separación de AMK de sus impurezas se realizó en un cromatógrafo...”.

En esta sección es preferible comenzar la descripción mencionando el “sujeto” y luego la “acción”, como en la frase: “la señal de respuesta del instrumento, en función del grado de derivatización, fue registrada en términos del mayor porcentaje de emisión, utilizando 250 nm como longitud de onda de excitación”, en lugar de la frase: “Para determinar la señal de respuesta el instrumento se colocó a...”; o la frase: “Utilizando 250 nm como longitud de onda de excitación la señal de respuesta...fue registrada...”; o en la frase: Habiendo colocado el instrumento en 250 nm como longitud de onda de excitación, la señal de respuesta...fue registrada...”.

Manual de estilo. Los números entre 0 y 10 se escriben en palabras y el resto en números arábigos, por ejemplo:

- (i) “Un total de cinco muestras...”
- (ii) “Un total de 20 muestras...”

Cualquier número se escribe en dígitos si va seguido de una unidad, por ejemplo:

- (i) “se añadió 20 mL...”
- (ii) “se añadió 2 g...”

No comenzar una oración con un número:

- (i) “20 mL fueron diluidos...”
- (ii) “2 g fueron tomados para el análisis de...”

Mejor algunas de las siguientes opciones:

- (i) “Veinte mililitros del reactivo AQC...”
- (ii) “Una alícuota del reactivo AQC (20 mL)...”

- (iii) “Una porción del patrón AMK (2 mg)...”

No utilizar plural para indicar una cantidad, porción o alícuota:

- (i) “Se añadió 2 grs” (incorrecto)
- (ii) “Se añadió 2 g” (correcto)
- (iii) “Se añadió 20 mls” (incorrecto)
- (iv) “Se añadió 20 mL” (correcto)
- (v) “Se añadieron tres porciones de...” (correcto).

No se usa el signo de la coma para separar el sujeto y el verbo de una oración “La amikacina, es un antibiótico”, mejor: “La amikacina es un antibiótico”; excepto cuando se introduce una observación explicativa o informativa: “La amikacina, un aminoglicósido, es utilizado en el tratamiento de” o “La hierba guinea, introducida desde África, es una planta perenne de crecimiento erecto” [5].

Subtítulos. En esta sección y las siguientes se pueden utilizar subtítulos. Éste debe escribirse en negrita, sin utilizar letra cursiva, y terminar en punto. La descripción del subtítulo debe comenzar en la misma línea del subtítulo. No utilizar números para los subtítulos, por ejemplo: 2.1.

Tablas. En esta sección se pueden incluir tablas. Las tablas deben ir numeradas en forma secuencial, utilizando números arábigos y tipo de letra “Time New Roman”, tamaño 8. Escribir centrado la palabra “tabla” totalmente en mayúscula, todo en formato negrita “**TABLA**”. Escribir el título en la siguiente línea centrado, sin utilizar formato en negrita y todo en minúscula, excepto la inicial de la primera palabra y las excepciones conocidas, terminar con punto.

La fila que corresponde al encabezado de las columnas debe llevar sombreado, trama estilo 10% y relleno sin color. Cualquiera de las tablas de esta plantilla se puede copiar para generar una nueva. En este último caso, verificar que éstas finalmente conserven las mismas dimensiones y características de párrafo, así como de tabla, descritas en la Tabla 2.

Los parámetros, nombres o descripciones de la primera columna siempre se alinean a la izquierda, incluyendo el subtítulo. También aplica para otras columnas contentivas de información similar. Los subtítulos del resto de cada columna se transcriben centrados, al igual que el contenido de cada fila de esa columna. En ocasiones una columna contiene texto descriptivo o variables cuya transcripción en columnas es mejor transcribirlas con justificación a la izquierda (ver columna 2 de la Tabla 1). Solamente se alinean a la derecha los números cuando no están acompañados de sus unidades o cualquier otra descripción (ver última columna de la Tabla 2 y comparar con la columna 3 de la Tabla 3). La alineación a la derecha de cifras se justifica para percibir mejor la coma decimal (ver Tabla 4).

TABLA 2
Resumen del tipo de letra de cada sección del manuscrito.

Sección	Tipo de formato de la plantilla con macros de Microsoft Word								
	Tipo letra	Tamaño de letra	Itálica (cursiva)	Letra negrita	Alineación del texto	Espaciado			
						Anterior	Posterior	Interlineado	En:
Encabezado de la página N° 3, línea 1	Times New Roman	8	si	no	Derecha	0	15	Sencillo	-
Encabezado de la página N° 4, línea 1		8	no	no	Derecha	0	0	Sencillo	-
Título del trabajo		18	no	si	Centrado	Auto	Auto	Sencillo	-
Título del trabajo en inglés		12	no	si	Centrado	0	10	Múltiple	1,15
Nombre de Autores		12	si	si	Centrado	Auto	Auto	Sencillo	12
Afiliación		10	si	no	Homogénea sin sangría	0	10	Múltiple	1,15
Fecha de aceptación		9	si	si	Centrado	0	10	Múltiple	1,15
Título de cada sección		12	no	si	Izquierda sin sangría	24	6	Exacto	12
Texto		10	no	no	Homogénea con sangría en línea 1	0	0	Múltiple	1,15
Referencias		10	no	no	Homogénea con sangría en línea 1	0	0	Múltiple	1,15
Tablas		8	no	no	Homogénea	0,2 línea	0,2 línea	Exacto	10

NB: El autor no debe cambiar ninguno de los formatos de la tabla. Esta tabla puede copiarse como una existente para construir una nueva de dos columnas o utilizar el formato de la Tabla 1 para construir una equivalente de una sola columna.

Los autores tienen la obligación de consultar las normas internacionales de armonización para transcribir unidades y no afectar de esa manera la uniformidad de edición de la revista. Por ejemplo, para expresar la frase: “cuatro grados centígrados” los autores pueden optar indistintamente por abreviarlo de diferentes maneras: 4°C, 4° C, o 4 °C. El Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST) de EUA ha publicado una guía con el Sistema Internacional de Unidades la cual contiene reglas y convenciones de estilo para expresar valores de magnitudes acompañados de las unidades, los símbolos de las unidades y otras directrices según el caso específico del área del conocimiento. Esta guía puede consultarse en la Web [6]. Así para el ejemplo anterior, la Guía NIST establece “conservar un espacio entre el valor numérico y el símbolo de la unidad”, por ejemplo: 4 °C. Este estilo también se aplica para otros valores acompañados de sus unidades, por ejemplo: 4 g en lugar de 4g; incluso para expresar porcentajes, por ejemplo: 4 % en lugar de 4%.

La Guía NIST establece que el tipo de letra para los símbolos de las unidades debe ser impresa en tipo romano (no itálica), pero para indicar una variable se utiliza letra itálica (Tabla 3).

Instrucciones para construir una tabla de dos columnas. Para construir una tabla que ocupe dos columnas de una página se selecciona el texto de las dos columnas correspon-

diente al espacio y lugar que desea ubicar la tabla. Se sugiere copiar la Tabla 2, incluyendo parte del texto anterior a la tabla, e igual modalidad con el espacio posterior a la tabla, esto para no alterar la justificación de los espacios antes y después de las tablas, así como la justificación de dos columnas para el texto. Finalmente, el texto copiado se sustituye por el contenido del manuscrito de los autores.

Consideraciones finales. Aspectos a tomar en cuenta en cualquier sección de material y métodos [7].

(i) Sujetos y proceso de selección:

- Método de reclutamiento
- Criterios de entrada (inclusión/exclusión)
- Aprobación del comité de ética
- Consentimiento informado

(ii) Protocolo:

- Describir los procedimientos mayores
- Usar un orden lógico (temporal)
- Detallar los métodos nuevos o poco comunes
- Describir aspectos relevantes a los resultados

(iii) Métodos:

- Nombrar métodos de laboratorio usuales
- Detallar métodos nuevos o no publicados
- Incluir la fuente de los reactivos
- Confrontar con resultados para complementar

(iv) Análisis de datos:

- Métodos estadísticos (descriptivos, analíticos)
- Nombrar medidores de variabilidad (SD o DE, RSD o DER, entre otros)
- Definir niveles aceptados de significancia (p)
- Establecer intervalos de aceptación de resultados.

TABLA 3

Guía para transcribir variables, cantidades y símbolos según el Sistema Internacional de Unidades.

Descripción	Variable_ = *	Valor_ Símbolo*
Tiempo (segundos)	$t =$	3 s
Temperatura (centígrados)	$T =$	20 °C
Radio (centímetros)	$r =$	20 cm
Nº de onda (centímetros)	$1/\lambda =$	250 cm^{-1}
Volumen (mililitros)	$Vol =$	10 mL
Fracción de masa de B	$w_B =$	10 %
Fracción de volumen de B	$\phi_B =$	10 %

* NB: “_” significa que se debe dejar un espacio entre la variable y signo de igualdad, así como dejar un espacio entre el valor o número y el símbolo de la unidad. Los valores o cantidades se deben alinear a la izquierda en cada columna, al igual que cualquier descripción en la primera columna de la izquierda, excepto cuando están acompañados de las respectivas unidades (columna 3 de la Tabla 3).

RESULTADOS

Esta sección debe dar respuesta a cuáles fueron los resultados o hallazgos. Presentar los resultados de una manera inteligible, precisa y sin repetir la data experimental.

Dependiendo de la naturaleza de la investigación, esta parte del manuscrito puede redactarse conjuntamente con la sección de “discusión” para evitar repeticiones innecesarias.

El tiempo verbal de esta sección debe ser el pretérito, ya que en ella se describen los hallazgos o lo que se encontró. Se debe enfatizar sólo las observaciones importantes. De ser posible, utilizando recursos tales como: tablas y figuras (fotografías, microfotografías, diagramas, esquemas, dibujos, entre otros). Ejemplos:

(i) “La proporción idónea entre el agente AQC y el analito AMK resultó 5 a 1 en todos los valores de pH estudiados en medio alcalino (Tabla #)”.

(ii) “El rendimiento máximo ocurrió en el intervalo 8,0-9,5; no se observó reacción especialmente en el medio ácido (< 6,2)”.

(iii) “Ovallynov demostró que una solución amortiguadora contentiva de borato favorece más el rendimiento de la reacción que una solución amortiguadora de fosfato” [Ref #].

(iv) “En la Tabla # se puede ver que la temperatura no influyó sobre la derivatización de AMK con AQC”.

(v) “En la Fig. # se puede percibir que un calentamiento en-

tre 25 °C y 55 °C no afectó el rendimiento de derivatización”.

En la sección de “Resultados” no se debe incluir (repetir) material y métodos y tampoco se debe discutir los resultados; aunque es permisible redactar simultáneamente una sola sección como “Resultados y Discusión”, lo cual en ocasiones evita la repetición de los resultados en la sección de discusión, tal como se mencionó inicialmente.

Figuras. Las figuras deben construirse en escala de grises: blanco y negro (Fig. 1) o a color (Fig. 2 y 3). Éstas se guardan en formato preferiblemente Tiff (aunque los formatos JPEG y Raw son aceptables) con resolución de impresión mínima de 300 dpi (sigla anglosajón de pixeles o puntos por pulgada, o ppp en castellano). Cuando el tamaño del archivo de la figura sea mayor a 1 Mb utilizar algún programa para reducir espacio de archivo sin perder calidad de la imagen, por ejemplo: “Light Image Resizer”. El título se transcribe al pie de la figura con letra tipo “Times New Roman”, tamaño 8 sin justificar negrita o cursiva. La alineación del texto debe ser homogénea y comenzar con la abreviatura de figura en negrita seguido de la numeración arábiga, tal como se muestra en la Fig. 1.

La autoría de figuras, gráficos, fotos, entre otros, debe ser mencionada en el título de cada figura, excepto las propias.

Las figuras deben ser numeradas consecutivamente según el orden en que han sido citados en el texto. Las Figuras deben tener el tamaño final para su publicación de acuerdo a la presente plantilla. Las letras, números y símbolos en las figuras deben ser legibles y consistentes a lo largo del manuscrito. Cuando se utilicen símbolos, flechas, números o letras para identificar partes de las ilustraciones, explicar cada uno claramente en la leyenda de la figura.

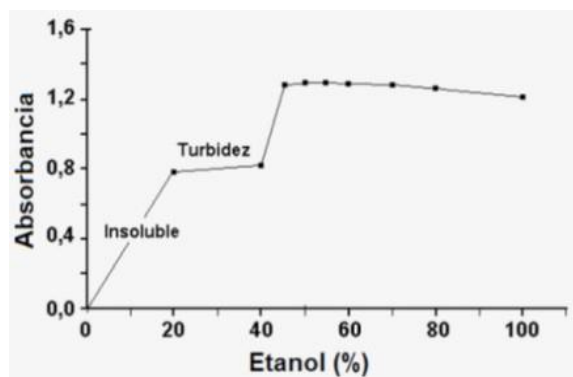


Fig. 1. Ejemplo de una figura producto de un resultado experimental presentada en escala de grises para la revista impresa. El fondo gris de la gráfica puede omitirse.

La Fig. 2 muestra la misma Fig. 1, pero procesada a color; hoy en día son preferibles gracias al auge que ha tenido la difusión del conocimiento vía electrónica en comparación con la impresa.

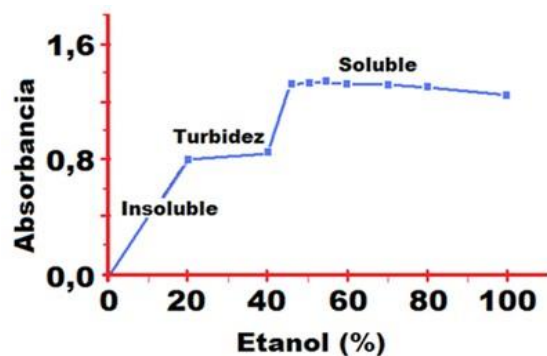


Fig. 2. Ejemplo de una figura producto de un resultado experimental presentada a color, con escalas y descripción totalmente legibles.

Si una figura ha sido publicada previamente, citar la fuente original y registrar que se ha obtenido la autorización por escrito del propietario del copyright para reproducir la figura. Este permiso es necesario independientemente del autor o la editorial, excepto para los documentos de dominio público. La Fig. 3 muestra otra forma de presentar una figura a color.

Fotografías. Las fotos deben editarse en escala de grises o a color. Las fotografías se guardan en formato preferiblemente Tiff con resolución de impresión mínima de 300 ppp (dpi, por sus siglas en inglés). Cuando el tamaño del archivo de la figura sea mayor a 1 Mb utilizar algún programa para reducir espacio de archivo sin perder calidad de la imagen, por ejemplo: “Light Image Resizer”. La magnificación de las microfotografías debe indicarse en la leyenda. La descripción de la fotografía debe colocarse en la parte inferior de la misma, tal como se muestra para la Fig. 4. Fotografías de personas fácilmente identificables deben estar acompañadas por un permiso escrito para su utilización pública.

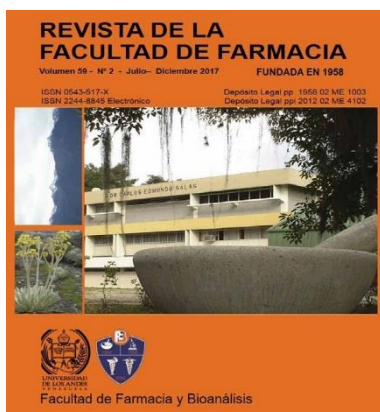


Fig. 3. Ejemplo de una figura a color para la revista digitalizada [Repositorio Institucional de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. URL: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/4861>].

Consideraciones a tomar en cuenta en la sección de resultados [7].

- Los datos se presentan sin interpretarlos, excepto cuando se incluye simultáneamente la sección de discusión.
- Una figura incluye todo tipo de material: morfología, algoritmos, histogramas, gráficas, fotografías, entre otros. Un gráfico expresa mejor la tendencia de los datos o permite resaltar una diferencia.
- La tabla tiene la ventaja de mostrar mejor los valores numéricos exactos con sus posibles interrelaciones. Por lo tanto, la tabla se utiliza cuando la presentación de los datos así lo amerita. Su función consiste en presentar de forma ordenada y concisa la información que de otra manera sería más difícil de expresar. Sus funciones son: (i) expresar valores numéricos con precisión detallada, (ii) precisar diferencias significativas entre estadígrafos y (iii) resumir informaciones numéricas extensas y/o compararlas.



Fig. 4. Ejemplo de una fotografía a color, guardada en formato Tiff (resolución de impresión 300 ppp).

Unidades de medida. Tanto en el texto, como en las tablas, incluir sólo los dígitos significativos (Tabla 4). Para mayor información consultar el catálogo de NIST para el uso del Sistema Internacional de Unidades (abreviado simplemente como SI): [8] y Estadística y Quimiometría para Química Analítica de Miller & Miller (2002) [9].

Las medidas de longitud, altura, peso y volumen se expresarán en unidades métricas (metro, kilogramo, litro) o sus múltiplos decimales. La temperatura debe estar en grados Celsius. La presión sanguínea debe ser en milímetros de mercurio. Las concentraciones de fármaco pueden ser reportados en SI o en unidades de masa y si amerita una alternativa ésta debe colocarse dentro de paréntesis.

Abreviaturas y símbolos. Utilizar sólo abreviaturas estándar, el uso de abreviaturas no convencionales puede ser confuso para los lectores. Evitar las abreviaturas en el título del manuscrito. Una palabra repetida varias veces en el manuscrito, se deletrea sólo la primera vez acompañada de su abreviatura entre paréntesis y luego se utiliza solo la abreviatura en el resto del manuscrito; a menos que la abreviatura sea una unidad de medida estándar. No utilizar una mezcla de ambas (abreviado y sin abreviar) a lo largo del manuscrito.

Tablas. No construir tablas para suministrar solamente unos pocos datos. No construir tablas que solo ameritan una

fila o columna. La inclusión de los datos en tablas en lugar de texto debe tener por objetivo reducir la longitud del texto y facilitar la interpretación de los resultados. Numerar las tablas consecutivamente en el orden de su primera citación en el texto y asignar un título breve para cada uno.

En las tablas está permitido usar líneas horizontales y verticales en el interior. Suministrar a cada columna de la tabla un encabezamiento corto y/o abreviado. Los autores deben colocar materia explicativa breve a pie de página, no en el encabezado. Explicar todas las abreviaturas no estándares en las notas al pie de página (Tabla 4).

TABLA 4

Ejemplo de cómo se transcriben datos conservando solamente cifras significativas dependiendo de la precisión de los resultados.

Concentración de Mg ²⁺ (µg mL ⁻¹)			DE*	Rpdo** (%)
Muestra (M) (endógeno)	Patrón (P) (adicionado)	M + P (hallado)		
M-1 0,61 (± 0,04)	1,00	1,64	0,03	103,0
	2,00	2,62	0,01	100,5
	3,00	3,68	0,02	102,3
M-2 0,6 (± 0,4)	1,0	1,6	0,3	103,0
	2,0	2,6	0,1	100,5
	3,0	3,7	0,2	102,3

* Para M-1, la desviación estándar (DE) ocurrió en las centésimas, por tanto, el resultado (M+P) no debe contener más de dos decimales. Para M-2, la desviación estándar (DE) ocurrió en las décimas, por tanto, el resultado (M+P) no debe contener más de un decimal. ** Recuperado.

DISCUSIÓN

Debe estar escrita en una forma concisa que facilite la comprensión y asimilación de los resultados. Es necesario hacer énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio y relacionar los resultados obtenidos con los divulgados en otras investigaciones. La mayoría de las veces resulta más conveniente redactar conjuntamente la sección de resultados con la sección de discusión para evitar repeticiones innecesarias. Básicamente la discusión debe dar respuesta a la pregunta ¿Qué significan los resultados? y debe exponer las relaciones que existen entre ellos.

Por lo general, durante la discusión es necesario hacer referencia a otros autores con el objetivo de comparar resultados. En estos casos se debe utilizar el tiempo “presente” para citar trabajos de otros autores y tiempo “pasado” para exponer los resultados actuales [3]. Ejemplos:

(i) “El pH idóneo en la derivatización de aminoácidos con AQC es 8,8 [Ref #]; sin embargo, el valor eficaz en la derivatización de AMK con AQC se obtuvo a pH 10,0”.

(ii) “La AMK mostró mayor rendimiento en la derivatización con AQC a pH 10,0 (± 0,5), mientras los aminoácidos presentan el mayor porcentaje de derivatización con un valor de pH 8,8 (± 0,5)” [Ref #].

(iii) “El fármaco AMK no requirió calentamiento

para obtener el mayor rendimiento en la derivatización, sin embargo, en la derivatización de aminoácidos se requiere calentamiento” [Ref #].

Cuando en la discusión es necesario atribuir un hecho a otro autor se escribe en tiempo pasado y el hecho como tal se escribe en tiempo presente, por ejemplo:

“Ferdinov demostró que la derivatización de AMK con AQC se puede realizar a temperatura ambiente” [Ref #].

Otra excepción a la regla es cuando se describe o presenta un resultado, por ejemplo:

“En la Tabla # se puede ver que la derivatización de AMK con AQC no se produjo en presencia de tampón fosfato, independientemente del valor de pH utilizado”.

En la discusión se utiliza el tiempo presente para mostrar o describir resultados de cálculos y análisis estadístico, seguido de la inferencia en tiempo pasado; por ejemplo:

“El tiempo de derivatización de AMK con AQC es significativamente menor que el obtenido en la derivatización de AMK con OPA [Ref #], lo cual se consideró como una ventaja adicional del método propuesto”.

En ocasiones en la discusión es necesario presentar hechos conocidos como tales y deben escribirse en tiempo “presente”; por ejemplo:

(i) “La derivatización de aminoácidos con AQC sucedió con valores de pH entre 7 y 10, lo cual corrobora una vez más que la derivatización de especies químicas con grupos amino (primarios y secundarios) ocurre en medio alcalino”.

(ii) Se encontró Sb(III) en las muestras analizadas. Estos resultados indican que Sb(V) penetra la célula y luego es reducido a Sb(III).

Otra excepción es que los resultados de los cálculos y análisis estadísticos (discusión) deben expresarse en presente, aun cuando el enunciado relacionado con los objetos a que aquellos se refieren esté en pasado; por ejemplo, “El rendimiento de la derivatización de AMK con AQC es significativamente mayor en medio alcalino que el correspondiente al obtenido en medio ácido, lo cual indica que los grupos aminos de AMK influyeron positivamente en la reacción de derivatización”.

De acuerdo a Day (2005) [3] la “voz activa” debe comenzar a incorporarse en la sección de Discusión de los artículos científicos con la finalidad de no utilizar el mayor número de palabras que requiere la “voz pasiva”, así por ejemplo, es correcto decir: “S. cerevisiae produjo etanol”, en vez de “El etanol fue producido por S. cerevisiae”.

Es común que los autores traten de explicar “algo” comenzando la oración con la “acción”, lo cual se puede evitar convirtiendo el sustantivo en verbo; por ejemplo:

(i) “La determinación de la concentración del analito se llevó a cabo mediante”; puede cambiarse por: “La concentración del analito se determinó.

(ii) “Se llevó a cabo el análisis de las muestras”; puede cambiarse por: “Las muestras se analizaron”.

(iii) “La derivatización de AMK se consiguió utilizando”; puede cambiarse por: “El fármaco AMK se derivatizó”.

Evitar realizar una discusión extensa de trabajos previamente publicados así como la introducción innecesaria de citas. presente, aun cuando el enunciado relacionado con los objetos a que aquellos se refieren esté en pasado; por ejemplo, “El rendimiento de la derivatización de AMK con AQC es significativamente mayor en medio alcalino que el correspondiente al obtenido en medio ácido, lo cual indica que los grupos aminos de AMK influyeron positivamente en la reacción de derivatización”.

De acuerdo a Day (2005) [3] la “voz activa” debe comenzar a incorporarse en la sección de Discusión de los artículos científicos con la finalidad de no utilizar el mayor número de palabras que requiere la “voz pasiva”, así por ejemplo, es correcto decir: “*S. cerevisiae* produjo etanol”, en vez de “El etanol fue producido por *S. cerevisiae*”.

Es común que los autores traten de explicar “algo” comenzando la oración con la “acción”, lo cual se puede evitar convirtiendo el sustantivo en verbo; por ejemplo:

(i) “La determinación de la concentración del analito se llevó a cabo mediante”; puede cambiarse por: “La concentración del analito se determinó”.

(ii) “Se llevó a cabo el análisis de las muestras”; puede cambiarse por: “Las muestras se analizaron”.

(iii) “La derivatización de AMK se consiguió utilizando”; puede cambiarse por: “El fármaco AMK se derivatizó”.

Evitar realizar una discusión extensa de trabajos previamente publicados así como la introducción innecesaria de citas.

CONCLUSIONES

Deberán corresponder a las expectativas dilucidadas en la introducción. Evitar hacer un resumen de los resultados. Las conclusiones pueden constar de una evaluación crítica del método o aporte propuesto. No enumerar las conclusiones.

AGRADECIMIENTOS

Los autores podrán expresar de manera breve, palabras de agradecimiento a instituciones y/o a personas que contribuyeron al logro del trabajo. Es importante no omitir el número o código del proyecto. Alternativamente, esta sección se puede prescindir.

REFERENCIAS

En relación a las referencias bibliográficas utilizadas en la redacción de esta plantilla, es importante mencionar que gran parte de los fundamentos para establecer tiempos verbales de cada sección se utilizó el texto “Cómo escribir y publicar trabajos científicos” de Day (2005) [3], manual de estilo ava-

lado por la OPS.

Referencias citadas en el texto. Todas las citas hechas en el texto deben ser incluidas en las referencias bibliográficas. Para citarlas en el texto, simplemente colocar el número de la referencia encerrado entre corchetes, respetando el orden de aparición y siguiendo una numeración sistemática. Por ejemplo, un autor: “Nishimoto (año) [Ref #]”; dos autores: Villagrán & Harris (2009) [Ref #]; y más de dos autores: Velasco y col. (2010) [Ref #].

Observe que dos referencias consecutivas se separan con coma y no con guión, por ejemplo: [2,3]. Nótese bien, si un árbitro encuentra referencias repetidas con diferente número en la lista de referencias, lo más seguro es que éste comience a sospechar sobre la calidad del manuscrito y lo termine rechazando.

Referencias bibliográficas. Deben ser escritas numeradas, destacando el número, entre corchetes, fuera del interlineado, por orden de aparición de la cita en el texto, siguiendo las normas internacionales de Vancouver: apellidos (utilizando mayúsculas sólo al comienzo del mismo) e iniciales del nombre (unidas y sin puntos), seguido de coma para separar a cada autor; finalizar el último nombre del autor con punto para separarlo del título. Citar todos los autores, excepto si son siete o más, en cuyo caso se debe añadir la expresión et al., finalizada en punto. Continuar con el título completo del trabajo usando solamente mayúsculas al inicio y en los nombres propios, finalizando con punto y seguido para colocar el título abreviado de la revista (sin puntos al finalizar cada abreviatura, excepto al final), seguido del año de publicación, posteriormente colocará punto y coma seguido del volumen y el número (este último entre paréntesis), sin dejar espacio entre volumen y número, finalmente después del paréntesis se colocan dos puntos continuando con las páginas de inicio y final separadas por un guión corto y finalizando con punto.

No se aceptarán como referencias:

- (i) observaciones no publicadas,
- (ii) comunicaciones personales y
- (iii) trabajos enviados a publicación sin carta de aceptación

Los nombres de las revistas deben abreviarse de acuerdo con:

(i) Catálogo de revistas y libros de la Biblioteca Nacional de Medicina Estadounidense, abreviado como NLM, por sus siglas en inglés: [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>].

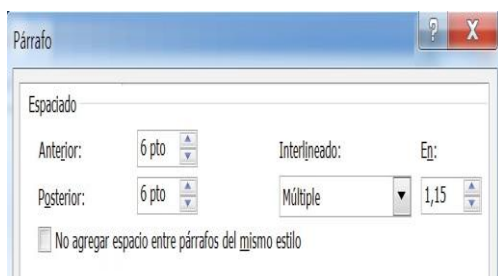
(ii) Índice Médico (Index Medicus): [<http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>].

(iii) Índice de búsqueda CAS (CASSI), una Organización de la Sociedad de Química Americana: [<http://www.cas.org/content/references/corejournals#>].

La exactitud de la transcripción de las referencias es responsabilidad de los autores. La recomendación es transcribir-

las exactamente siguiendo la guía para los autores. Algunos evaluadores comienzan la revisión de un artículo juzgando el cuidado con el que se transcribieron las referencias y lo consideran argumento válido para tomar la decisión de continuar la revisión o rechazar el manuscrito.

Transcripción de las referencias. Transcribir las referencias de acuerdo a los ejemplos que se muestran en esta plantilla, pero justificar una separación entre referencias de 6 “pto”, anterior y posterior:



Referencias de publicaciones periódicas. Autor(es). Título del artículo. Abreviatura internacional de la revista. Año; Volumen (Número): página inicial-página final del artículo.

Ejemplo general:

[1] Villagrán A, Harris PR. Algunas claves para escribir correctamente un artículo científico. Rev Chil Pediatr. 2009; 80(1): 70-78.

Ejemplo cuando el título incluye nombres científicos:

[2] Rojas L, Usabillaga A, Cegarra J, Borregales E. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Lepechinia schiedeana* (Schlecht) Vatke. Rev Fac Farm. 2004; 46(1): 27-30.

Ejemplo cuando los autores son más de seis, la revista carece de volumen y el nombre de la revista es un acrónimo:

[3] Luna JR, Ramírez L, Linares M, Molina JC, Ovalles JF, Peña J, et al. Un estudio de contaminación del suelo con plomo en los márgenes del Río Albarregas (Mérida, Venezuela) usando diente de león (*Taraxacum officinale*) como bioindicador. RETEL. 2013; 39 (junio-octubre): 34-47.

Ejemplo cuando el nombre de la revista no se abrevia y el artículo es una revisión:

Primer caso. La palabra “revisión” es incluida como parte del título:

[4] Mandal BK, Suzuki KT. Arsenic round the world: a review. Talanta. 2002; 58(1): 201-235.

Segundo caso. La palabra “revisión” no es incluida como parte del título:

[5] Santos HM, Capelo JL. Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment. Review. Talanta.

2007; 73(5): 795-802.

Tercer caso. La palabra “revisión” no es incluida como parte del título y el artículo está escrito en español:

[6] Aranguren J, Contreras RR. Química bioorganometálica en perspectiva. Revisión. Rev Fac Farm. 2010; 52(2): 22-33.

Ejemplo cuando la revista periódica carece de autor ya que la autoría la asume una organización:

[7] World Health Organization (WHO). Mobilizing political will to contain antimicrobial resistance. Bull World Health Organ. 2011; 89(3): 168-169.

Ejemplo cuando el idioma del título del artículo es diferente del español e inglés (conservar el idioma original):

[8] Frézard F. Lipossomas: propriedades físico-químicas e farmacológicas, aplicações na quimioterapia à base de antimônio. Quím Nova. 2005; 28(3): 511-518.

Ejemplo cuando uno de los autores posee dos apellidos y dos nombres o cuando uno de los autores usa el apellido de su estado civil:

[9] Petit de Peña Y, Vicuña-Fernández N, Briceño-Páez LC, Guillen-Cañizares JC, Vásquez L, Scorza-Dagert JV. Estudio farmacocinético comparativo de dos antimoniales pentavalentes empleados en la leishmaniasis cutánea en Venezuela. Rev Fac Farm. 2013; 55(1): 18-25.

Otras modalidades de referencias no presentes en esta sección deben seguir las Normas de Vancouver pero respetando las directrices mencionadas anteriormente.

Referencias de libros. Autor(es). Título del libro. La edición siempre se escribe en números arábigos y abreviatura: “ed.” Ciudad: Editorial; Año. Página inicial-final consultada (prescindible cuando se consultan páginas y secciones diferentes del mismo libro). La primera edición no se acostumbra a colocar en las referencias.

Ejemplo general con un solo autor y cuando se consultan varias secciones del mismo texto:

[10] Day RA. Cómo escribir y publicar trabajos científicos. 3ra ed. Washington: Publicación Científica y Técnica de la Organización Panamericana de la Salud; 2005.

Ejemplo cuando la obra está compuesta por más de un volumen y se conoce la página consultada:

[11] Calderón del Campo M, Rojas-Vázquez FA. Toxicología veterinaria. Vol. 3. 2da ed. Mérida: McGraw-Hill Interamericana; 2013. p. 39.

Ejemplo de artículo en libro o capítulo de libro y se conoce el número de páginas consultadas:

[12] Miller JN, Miller JC. Estadística y quimiometría para química analítica. 4ta ed. Madrid: Editorial Prentice Hall; 2002. pp. 83-90.

Memorias en Congresos. Autor(es). Título seguido de la palabra Resumen entre paréntesis. Escribir: “Memorias del” seguido del “Nombre del Congreso”, Año. Ciudad, País. Página. Ejemplo general:

[13] Goyo-Rivas J, Palacios-Prü EL. Síndrome de Chediak-Higashi: Observación de partículas virales asociadas a la fase acelerada (Resumen). Memorias del I Congreso Atlántico de Microscopía Electrónica, 1992. Mérida, Venezuela. p. 202.

Tesis. Apellido e inicial del nombre del autor. Título de la tesis entre corchetes: [Tesis licenciatura/especialidad/diplomado/maestría/doctoral]. Institución, Lugar de publicación: Editorial; Año. Ejemplo general:

[14] Delgado N. Implicaciones ecofisiológicas de la introducción de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* como controlador biológico de *Anopheles aquasalis* (orden Diptera, familia Culicidae) [Tesis doctoral]. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela, Caracas: Servicio de Publicaciones de la Universidad Central de Venezuela; 1996.

Revista en formato electrónico. Autor(es) del artículo. Título del artículo. Nombre de la revista abreviada seguido de la observación “[revista en Internet]” año [acceso: día mes año]; volumen seguido del (número) sin dejar espacio: [Nº de extensión/páginas/pantallas]. Disponible en: “dirección electrónica”, sin colocar punto al final de la dirección electrónica. Ejemplo general:

[15] Francés I, Barandiarán M, Marcellán T, Moreno L. Estimulación psicocognoscitiva en las demencias. *An Sist Sanit Navar* [revista en Internet] 2003 [acceso: 19 de octubre de 2005]; 26(3): [24 páginas]. Disponible en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol26/n3/revis2a.html>

Cuando exista duda en la transcripción de otros tipos de referencias se puede consultar: “Requisitos de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas” disponible en: [<http://www.icmje.org/>], pero respetando las directrices mencionadas anteriormente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Marin-Candón JA. Reglas de Ortografía [Página Web] 2006 [acceso: 19 de febrero de 2014]. Disponible en: <http://www.reglasdeortografia.com/index.php>

[2] La Real Academia Española [Página Web] 2014 [acceso: 09 de febrero de 2014]. Disponible en: <http://www.rae.es/dpd/srv/search?id=BapzSnotjD6n0vZiTp>

[3] Day RA. Cómo escribir y publicar trabajos científicos. 3ra ed. Washington: Publicación Científica y Técnica de la Organización Panamericana de la Salud; 2005.

[4] Cornejo M. PSYKHE. Publicación de la Escuela de Psicología de la Facultad de Ciencias Sociales de la Pontificia Universidad Católica de Chile. [Página Web] 1992 [acceso:

09 de noviembre de 2013]. Disponible en: <http://www.scielo.cl/revistas/psykhe/einstruc.htm>

[5] Marti-Mut JA. Manual de Redacción Científica. [Página Web] 1998-2013 [acceso: 10 de noviembre de 2013]. Disponible en: <http://edicionesdigitales.info/Manual/Manual/Welcome.html>

[6] The NIST Reference on Constants, Units, and Uncertainty. [Página Web] 1998-2007 [acceso: 12 de noviembre de 2013]. Disponible en: <http://physics.nist.gov/cuu/Reference/contents.html>

[7] Villagrán A, Harris PR. Algunas claves para escribir correctamente un artículo científico. *Rev Chil Pediatr*. 2009; 80(1): 70-78.

[8] The National Institute of Standards and Technology (NIST). Agency of the U.S. Department of Commerce. [Página Web] 2010 [acceso: 10 de octubre de 2013]. Disponible en: <http://www.nist.gov/pml/pubs/sp811/index.cfm>

[9] Miller JN, Miller JC. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4ta ed. Madrid: Pearson Prentice Hall; 2000.

APÉNDICE

Es recomendable consultar descriptores en base de datos en ciencias de la salud, ciencia en general y tecnología, según la naturaleza de la investigación.

MEDLINE con acceso gratuito de resúmenes a través del portal PubMed [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>].

El **MeSH** agrupa los términos o descriptores que se asignan a cada artículo para conocer los temas de los que trata. A través de estos términos se puede localizar referencias con mayor precisión. La traducción del MeSH, realizada por el **BIREME**, ha dado lugar al **DeCS** (descriptores en ciencias de la salud) [<http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>].

Embase corresponde al repertorio *Excerpta Medica* y destaca en la información sobre áreas de la carrera de Farmacia. El tesoro de Embase es **EMTREE**, el cual incorpora los términos MeSH y también términos **CAS** (Chemical Abstract Service). El acceso a Embase es privado y se gestiona a través de Elsevier [<http://www.embase.com/>].

Las bases de datos bibliográficas **ICYT**, **ISOC** e **IME** contienen la producción científica publicada en España desde los años 70. Recogen fundamentalmente artículos de revistas científicas y de forma selectiva actas de congresos, series, compilaciones, informes y monografías. El Índice Médico Español (**IME**) [<http://www.iedcyt.csic.es/>] es la principal base de datos en Ciencias de la Salud en español en cuanto al volumen de referencias. La base de datos tiene dos tipos de acceso, gratuito [<http://bddoc.csic.es:8080/>] y privado (es el que incluye los descriptores).

Herramientas electrónicas óptimas en la investigación biomédica, ciencia en general y tecnología, preferentemente en idioma anglosajón.

(i) **Scirus** es aclamada en Google como la herramienta de investigación científica más completa en la web [<http://www.scirus.com/>].

(ii) **Web of Science** abarca una gama amplia de revistas, de ayuda, tanto en la búsqueda de palabras clave como del análisis de citas.

(iii) **Scopus** es una base de datos bibliográfica de resúmenes y citas de artículos de revistas científicas de acceso por suscripción.

(iv) **ScienceDirect** es una de las principales bases de datos que ofrecen artículos a texto completo de revistas científicas y capítulos de libros. La plataforma ofrece sofisticadas funciones de búsqueda y recuperación de datos que permite al usuario consultar libremente resúmenes y las palabras clave usuales de búsqueda de artículos científicos. Google Scholar es un buscador especializado en contenido científico que puede ayudar en la recuperación de información, pero con cierta discreción [<http://scholar.google.es/>].

DeepDyve es un buscador electrónico con acceso gratis a la primera página y acceso al resto de páginas bajo la modalidad de alquiler por tiempo limitado para visualización en navegadores web, en lugar de la conexión de compra y descarga convencional. Cada artículo puede visualizarse en la web de manera gratuita durante al menos cinco minutos [<http://www.deepdyve.com/>].

Elsevier es la mayor editorial de libros de medicina y literatura científica del mundo, con más de 60 recursos electrónicos de búsqueda [<http://www.elsevier.com/electronic-products>] y más de 20 bases de datos bibliográficas [<http://www.elsevier.com/bibliographic-databases>].

Springer Publishing Company es una compañía editorial en el campo de la medicina [<http://www.springerpub.com/pages/Contact-Us#.UHyRPDcXx-0>], independiente de la otra compañía que comparte el mismo nombre: Springer Science and Business Media [<http://link.springer.com/>] la cual involucra múltiples disciplinas.

Scholarly open-access publishers contiene una gama amplia de editores de revistas de libre acceso, por algunos criticadas como de fraudulentas, ya que el costo de publicación lo cancela el autor y no el que consulta; no obstante, muchas de las revistas se encuentran registradas en los principales índices del mundo [<http://scholarlyoa.com/publishers/>].

PublishersGlobal es un directorio web que muestra los perfiles de decenas de miles de proveedores de servicios editoriales de todo el mundo [<http://www.publishersglobal.com/directory/>].

Para conocer más recursos de búsqueda a nivel global se puede consultar la selección que aparece en el enlace:

[http://ics.jccm.es/uploads/media/Recursos_para_la_búsqueda_bibliografica_01.pdf].

REGLAMENTO PARA EL ARBITRAJE

CAPÍTULO 1

Disposiciones Fundamentales

Artículo 1. El presente REGLAMENTO tiene por objeto normar los principios rectores del Arbitraje de los Trabajos de Investigación, enviados por autores al Editor para su aceptación en la Revista de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes.

Artículo 2. La recepción de un Trabajo de Investigación por parte del Editor, no implica por fuerza su aceptación para ser publicado en cualquiera de volúmenes de la Revista de la Facultad que se editen en un año. Además, no se recibirán trabajos para arbitraje que no estén acompañados de un oficio dirigido al Editor de la Revista, firmado por el autor (o responsable de una publicación en caso de ser colectiva).

Artículo 3. El Editor podrá recibir trabajos de investigación para su Arbitraje de cualquier autor de algunas de las Facultades de la Universidad de Los Andes, en primera instancia. En segundo lugar, de cualquier autor adscrito a cualquier universidad pública o privada del país. En tercer lugar, de autores de universidades extranjeras con preeminencia de América Latina.

Artículo 4. El Editor se reserva el Derecho de Admisión de los trabajos con base en lo establecido en el presente REGLAMENTO, y en las Instrucciones para los Autores, publicada en cada volumen editado de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 5. El Editor no recibirá para su consideración de arbitraje trabajos divulgativos en cualquiera de las áreas de competencia de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 6. El Editor aceptará para su arbitraje trabajos de investigación documental con aportes sustanciales al conocimiento científico de cualquiera de las áreas de competencia de la Revista de la Facultad de Farmacia, y que se ajusten a lo estipulado en las Instrucciones para los autores.

CAPÍTULO 2

De los Árbitros y de su Competencia

Artículo 7. El número de miembros del Comité de Arbitraje estará supeditado a las áreas de competencia de la Revista de la Facultad de Farmacia. En todo caso, algunos miembros del Comité podrán fungir como representantes hasta de tres áreas del conocimiento, de acuerdo con su formación y experiencia científica, y será potestad del Editor su designación.

Artículo 8. Los miembros del Comité de Arbitraje podrán ser miembros del personal docente y de investigación de la Universidad de Los Andes, o de cualquier otra universidad pública o privada de la República de reconocida actividad científica y académica, con estudios de cuarto nivel.

Artículo 9. Podrán ser miembros del Comité de Arbitraje reconocidos investigadores de universidades extranjeras, cuyas instituciones mantengan convenios de cooperación y de intercambio con la Universidad de Los Andes.

Artículo 10. Podrán ser miembros del Comité de Arbitraje de la Revista de la Facultad de Farmacia investigadores sin estudios de cuarto nivel, siempre que hayan sido reconocidos por su actividad de investigación dentro o fuera de la institución a la que estén adscritos.

Artículo 11. El Editor seleccionará con base en lo expuesto en los Artículos: 7, 8 y 9 del presente REGLAMENTO, a los investigadores que conformarán el Comité de Arbitraje de la Revista de la Facultad de Farmacia por un periodo no mayor de dos años consecutivos, pudiendo solicitar a motu proprio su reinscripción dentro del Comité a algunos de los miembros salientes o por iniciativa de éstos.

Artículo 12. Son funciones de los árbitros, las siguientes:

a. Evaluar los trabajos de investigación de sus áreas de competencia. b. Enviar al Editor una respuesta por

escrito del trabajo considerado, en un plazo no mayor de 30 días, contados a partir de la recepción del texto. c. Aprobar o improbar los trabajos recibidos, con base a argumentos científicos proclives a ser revisados. d. No establecer con los autores de los trabajos ninguna comunicación referida al texto que evalúa, que conlleve interferencias y subjetividades en el proceso. e. Aplicar en la evaluación argumentos científicos objetivos que permita al Editor a posterior iniciar un proceso de retroalimentación positiva con los autores, a los fines de la excelencia y transparencia del trabajo científico, y de la proyección de la Revista de la Facultad de Farmacia. f. Aplicar en la evaluación los parámetros especificados en la Guía para los Árbitros.

Artículo 13. Los árbitros tienen derecho a recibir a cambio de su trabajo de evaluación, una constancia expedida por el Editor, a los fines de su inclusión en procesos de reconocimiento de los méritos académicos y científicos de los miembros del personal docente y de investigación de las universidades representadas en el Comité de Arbitraje.

CAPÍTULO 3 Disposiciones Finales Artículo

Artículo 14. El Editor podrá sustituir en cualquier momento a algún miembro del Comité de Arbitraje, cuando éste no haya cumplido con lo dispuesto en el presente REGLAMENTO. El Editor procederá de inmediato a sustituir al miembro excluido con base a lo dispuesto en los Artículos: 7,8 y 9 del presente REGLAMENTO, y a notificar de inmediato su remoción al saliente.

Artículo 15. Los autores tendrán derecho a solicitar reconsideración de la evaluación de su trabajo de investigación cuando haya resultado improbadado por un miembro del Comité de Arbitraje. A tales efectos, el Editor enviará el trabajo en cuestión a ser evaluado a otro árbitro. En caso de resultar positiva la segunda evaluación, el Editor se reservará el derecho de publicar o no el trabajo sin más opiniones de expertos, con base a la disponibilidad de espacio en la Revista en el volumen que juzgue conveniente, y así se lo hará saber al autor.

Artículo 16. Con base en lo dispuesto en el Artículo anterior, las decisiones de los árbitros son inapelables y de obligatorio acatamiento por parte del autor.

Artículo 17. Los miembros del Comité de Arbitraje no percibirán remuneración económica alguna por su trabajo.

Artículo 18. Los trabajos de investigación recibirán respuesta escrita a partir de los 60 días hábiles de su recepción.

Artículo 19. Si el informe de arbitraje es positivo para un trabajo en primera instancia, el Editor se compromete a incluirlo en el volumen inmediatamente próximo de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 20. El Editor se arroga la potestad de realizar observaciones de forma a los trabajos recibidos antes de ser enviados a arbitraje, de tal manera que el autor se compromete a acatarlas sin desmedro de la trascendencia o alcance científico del trabajo.

Artículo 21. El autor se hace responsable de cualquier errata de forma y de fondo que esté incluida en el original enviado al Editor; y éste no se compromete a dar Fe de Errata en tales circunstancias.

Artículo 22. El Editor se compromete a dar Fe de Errata en aquellas circunstancias en que por inadvertencia o fallas técnicas se haya incurrido en un error no incluido en el original (papel y electrónico) enviado para su consideración por el autor. Tal procedimiento se patentizará en el volumen inmediatamente siguiente a la emisión del error, siempre y cuando el autor se lo haga saber al Editor por escrito tres meses antes de la edición del siguiente volumen de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 23. El Editor no se compromete a expedir constancias de trabajos recibidos sin que haya finalizado el proceso de arbitraje y se cuente con un informe escrito y firmado por el árbitro.

Artículo 24. Lo establecido en el presente REGLAMENTO será difundido en la Revista de la Facultad de Farmacia, de tal forma, que tanto autores como árbitros se solidaricen con lo aquí expuesto.

Índice acumulado

Volumen 55 (1)

Año 2013

González-Ramírez Carolina, Gil-Gómez Florimar, Contreras Sandra, Guillén Maryoli, Blanco de García María Alejandra, Díaz José Javier.

Propuesta de una técnica de cuantificación estandarizada (Katz-G.G.G.) de *Blastocystis* sp., y su correlación con el conteo en examen directo y la clínica del paciente.

Luigi Teresita, Rojas Legna, Valbuena Oscar.

Detección rápida de Salmonella en leche cruda y pasteurizada mediante Inmunoseparación magnética reacción en cadena de la polimerasa.

Petit de Peña Yaneira, Vicuña-Fernández Nelson, Briceño-Páez Luisa Carolina, Guillen Cañizares Juan Carlos, Vásquez Laura.

Estudio farmacocinético comparativo de dos antimoniales pentavalentes empleados en la leishmaniasis cutánea en Venezuela.

Armas Kaylin, Rojas Janne, Peña José.

Características botánicas, distribución geográfica y propiedades biológicas de varias especies del género *Tage tes* L. (Asteraceae).

Volumen 55 (2)

Año 2013

Aparicio Rosa, Villasmil Thayded, Peña Alexis, Julio Rojas, Usubillaga Alfredo.

Estudio fitoquímico de las hojas de *Espeletia semiglobulata* Cuatrec.

Corredor-Aranguren Ada, Chidiak-Tawil Soley, Jarpa-Remaggi Patricio, Urdaneta-Paredes Leonidas, Sánchez-Contreras Nuvia, Aparicio Zambrano Rosa, Usubillaga Alfredo.

Determinación del nivel de nicotina en el chimó venezolano.

Rojas Ylmar, Sasso Jaime, Saavedra Iván, Calderón Laura, León Andrés, Quiñones Luis.

Validación de un método UPLC con espectrometría de masas en tándem para la cuantificación de niveles plasmáticos de rosuvastatina.

Brunetto María del Rosario, Delgado Yelitza, Quiroz Cristhian, Orozco Wendy, Ayala Carlos, Gallignani Máximo.

Desarrollo de un sistema en flujo multijeringa para la extracción en fase sólida en línea para determinar cocaína y benzoilecgonina en orina.

Núñez Richard, Rojas Janne, Lucena María, Roa Ana, Meléndez Pablo.

Evaluación de la actividad antibacteriana y efecto citotóxico de extractos obtenidos de la especie *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. (Hypericaceae).

Volumen 56 (1)

Año 2014

Ovalles José Fernando, Velasco Judith, Rojas Janne, Ramírez-González Irama, Vielma Rosa Alba, Contreras Libia Yaritza, Lozano Ricardo, Meléndez Pablo, Piña Enzo, Peña Jesús.

Guía para autores para escribir un artículo científico.

Hernández-Bastidas Vanessa, Mora-Vivas Flor, Rojas-Fermín Luis, Meléndez Pablo.

Análisis del aceite esencial de las hojas de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae).

Santiago-Dugarte Carolina, Abad-Reyes Andrés, Bahsas Alí, Chacón-Morales Pablo.

Síntesis de derivados nitrogenados de la podofilotoxina.

Petit de Peña Yaneira, Guillén Juan Carlos, Vicuña-Fernández Nelson, Briceño Luisa Carolina, Carrero Pablo, Peñalosa Hermes.

Determinación del contenido de cadmio en muestras de tabaco de cigarrillos comercializados en Venezuela.

Pérez-Colmenares Alida, Vivas-Guerrero Karla, Rojas-Fermín Luis, Usubillaga Alfredo, Chataing Bernardo.

Estudio fitoquímico y determinación de la actividad anti-bacteriana de las hojas de *Lepechinia bullata* (Kunth) Epling.

**Volumen 56 (2)
Año 2014**

Ramírez-González Irama, Villalobos-Osorio Darly, Rojas-Fermín Luis, Mendoza Francisco, Rodríguez- Castillo Clorybeth, Carmona Juan.

Composición del aceite esencial de las flores de *Oyedaea verbesinoides* D.C.

Menolasina Sabino.

Más acerca del comportamiento electroquímico de la dopamina con el pH del medio electrolítico.

Reyes Marisela, Barazarte Andris, Fonseca Yuraima, Fontal Bernardo, Usubillaga Alfredo, Suárez Trino, Bellandi Fernando, Vielma Joel.

Catalytic hydrogenation of kaurenoic and grandiflorenic acids methyl esters with RuCl_2 (DMSO) 4 in homogeneous and biphasic media.

Villasmil Thayded, Peña Alexis, Aparicio Rosa, Usubillaga Alfredo.

Ésteres glicosídicos de algunos derivados del ácido entkaur-16-eno-19-oico.

**Volumen 57 (1)
Año 2015**

Peña Alexis, Usubillaga Alfredo, Alarcón Libia, Velasco Judith, Aparicio Rosa.

Obtención de derivados azufrados del ácido kaurénico y de otros kaurenos substituidos en la posición C-15 y su actividad antibacteriana.

Rivas Nieto Rebeca, Martínez Yris, Materán Jesús, Ortiz Reynaldo.

Estudio *in situ* por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier de la oxidación electroquímica del acetaminofén en medio acuoso.

Obregón-Díaz Ysbelia, Rojas-Fermín Luis, Usubillaga Alfredo, Pouységu Laurent, Quideau Stéphane.

Study of the chemical composition of the essential oil from the hybrid Asteraceae *Carramboa tachirensis* (Aristeg.) Cuatrec.

Pinto Ana Andreina, Amaro-Luis Juan Manuel.
Secondary metabolites from *Chaptalia meridensis*.

**Volumen 57 (2)
Año 2015**

Gina Meccia, Patricia Vit, Luis B. Rojas, Juan Carmona, Bertha Santiago, Alfredo Usubillaga.

Composición química del aceite esencial de hojas frescas de *Annona muricata* L., de Mérida, Venezuela.

Peña G Jesús A, Rosales Yolima, Giampaolo Orlandoni.

Estudio del crecimiento bacteriano. Enfoque de análisis de datos de medidas repetidas.

Guillén-Guillén Ana M, Brunetto Rosario, León-Leal Andrés, Galignani Máximo, Lobatón-Álvarez Robert, Colón-Useche Sarín, Calderón-González Laura.

Validación de un método analítico por cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa para la cuantificación de hidroclorotiazida y clorhidrato de propranolol en formas farmacéuticas sólidas.

Gutiérrez Carlos, Rivera Yezabel, Gómez Rubén, Bastidas Vanessa, Izaguirre César.

Extracción y caracterización de grasa y almidón de la almendra de mango variedad Alphonso (*Mangifera indica* L).

**Volumen 58 (1)
Año 2016**

Rojas Janne, Velasco Judith, Buitrago Alexis, Mender Tamara, Rojas John.

Evaluación de la actividad antimicrobiana de plantas

medicinales seleccionadas del Jardín Botánico del Orinoco, municipio Heres, Estado Bolívar.

González-Ramírez Carolina, Martínez Asdrúbal, Assouad Manuel, Álvarez Janeth, Gil-Gómez Florimar, Castro-Vera Trino, Pérez-De Pablos Carlos, Dávila Ciro.

Fasciolosis y parásitos gastrointestinales en becerros de la Estación Experimental "El Joque" Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Mogollón José Ángel, Rondón María Eugenia, Morales Antonio, Contreras Billmary Zuleyma.

Estudio fitoquímico y actividad antioxidante de los extractos de las partes aéreas de *Euphorbia laurifolia* Juss. ex Lam.

Colón-Useche Sarín, Guillén Ana, Peña Jesús, Lobatón Robert, León Andrés, Calderón Laura.

Comparación de los perfiles de disolución de cápsulas de cefadroxilo comercializadas en Venezuela.

**Volumen 58 (2)
Año 2016**

Morillo Marielba, Visbal Tomas, Vielma Rosa Alba, Peña Liz, González Isbelia, Medina Ana Luisa.

Composición química y perfil mineral de materias primas de origen animal y vegetal utilizadas en la formulación de dietas para la alimentación de alevines de *Colossoma macropomum*.

Bracho-Niño Ismer, Rojas-Fermín Luis, Usubillaga Alfredo, Carmona Juan, Carrero José, Hernández Johanna, Deffieux Denis, Pouységu Laurent, Quideau Stéphane.

Estudio fitoquímico de la resina de *Protium carana* March (Burseraceae), derivados semisintéticos de los triterpenos α/β -amirinas, determinación de su actividad antioxidante y actividad antibacteriana.

Visbal Tomas, Morillo Marielba, Rial Leandra, Altuve Daisy, Betancourt Carlos, Medina Ana.

Uso de chachafruto (*Erythrina edulis*) y soya (*Glycine max*) como sustituto de la harina de pescado en la formulación de dietas para alevines de coporo (*Prochilodus mariae*).

Rosales-Oballos Yolima, Raybaudi-Massilia Rosa, Medina Ana L., Mosqueda-Melgar Jonathan, Tomé-Boschian, Elisabetta.

Evaluación sensorial de lonjas de jamón cocido y pechuga de pavo, recubiertas con películas antimicrobianas de alginato de sodio.

Rios Nurby, Villalobos Darly, Rojas-Fermin Luis, Aparicio Rosa, Usubillaga Alfredo, Mitaine-Offer Anne-Claire, Lacaille-Dubois Marie-Aleth, Denis Deffieux, Peixoto Philippe, Laurent Pouységu, Stéphane Quideau.

In vivo anti-inflammatory activity of grandiflorenic acid and kaurenic acid isolated from *Coespeletia moritziana* and *Espeletia semiglobulata*.

Buitrago Diolimar, Morales Antonio, Rojas-Fermín Luis, Aparicio Rosa, Meléndez Pablo.

Composición química del aceite esencial de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC de los Andes Venezolanos.

**Volumen 59 (1)
Año 2017**

Rojas-Fermin Luis, Rojas-Vera Janne, Cordero De Rojas Yndra, Handan Mager, Carmona Juan.

Composición química del aceite esencial de las hojas de *Artemisia absinthium* L. colectada en Tovar-Edo. Mérida, Venezuela.

Ortiz Reynaldo, Nava Lismar, Martínez Yris, Weinhold Elks, Paredes Andreina.

Determinación voltamétrica de citrato de sildenafil en formulaciones farmacéuticas.

Rios Nurby, Villalobos Darly, Rojas-Fermin Luis, Aparicio Rosa, Usubillaga Alfredo, Mitaine-Offer Anne-Claire, Lacaille-Dubois Marie-Aleth, Denis Deffieux,

Peixoto Philippe, Laurent Pouységu, Stéphane Quideau. *In vivo* antiinflammatory activity of grandiflorenic acid and kaurenic acid isolated from *Coespeletia moritziana* and *Espeletia semiglobulata*.

Buitrago Diolimar, Morales Antonio, Rojas-Fermín Luis, Aparicio Rosa, Meléndez Pablo.

Composición química del aceite esencial de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC de los Andes Venezolanos.

Volumen 59 (2)
Año 2017

Cordero de Rojas Yndra, Lucena de Ustáriz María Eugenia, Araujo Liliana, Usubillaga Alfredo, Rojas-Fermín Luis, Moujir Laila

Actividad antibacteriana de diterpenos del kaurano aislados de *Coespeletia moritziana* (Sch. Bip. ex Wedd.) Cuatrec.

Hernández Bastidas Vanessa, Mora Vivas Flor D, Nicola Malafronte, Nunziatina De Tommasi

Actividad anti-inflamatoria del extracto alcohólico de *Astronium graveolens* Jacq.

Pérez-Colmenares Alida, Rojas-Fermín Luis, Usubillaga Alfredo

Constituyentes volátiles de las hojas de *Lepechinia bullata* (Kunth) Epling de los Andes venezolanos.

Villalobos-Osorio Darly, Rios Nurby, Ramírez-González Irama, Meléndez Pablo

Actividad antiinflamatoria in vivo de extractos de hojas, tallos y frutos de *Ficus maitin* Pittier.

Volumen 60 (2)
Año 2017

Muñoz Jesús, Sánchez Kiralba, Babino Cynthia

Evaluación del balance del contenido vaginal para el diagnóstico de la disfunción vaginal.

García Giovanni, Rodríguez-Castillo Gabriela, Velasco Judith, Villalobos-Osorio Darly, Ramírez-González Irama

Actividad antimicrobiana y perfil fitoquímico de las hojas de *Connarus venezuelanus* B. var. *venezuelanus* (Connaraceae R. BR.).

Di Bernardo María, Zambrano de Dávila Thania, Morales Yasmin, Brito Sulay, Rojas de Marín Tibisay, Montero Yepsy, Osorio Andrés, Montoya Dubelia

Valoración del efecto de la Erdosteina en cuadros de intoxicación con Paraquat en ratas BIOU: Wistar y comparación con la N-acetil-cisteína mediante determinación de malondialdehído por Espectroscopia UV

Vivas Odry, Sangronis Elba

Perfil de textura instrumental y sensorial de pastas elaboradas con *Cajanus cajan* fermentada.

Volumen 60 (2)
Año 2018

Rondón María, Moncayo Shirley, Cornejo Xavier, Plaza Claudia

Fenoles totales, contenido de flavonoides y actividad antioxidante de los extractos etanólicos de plantas ecuatorianas.

Peña Jesús, Ramoni Josefa, Giampaola Orlandoni

Un modelo de supervivencia bivariante para eventos dependientes bajo el enfoque de funciones cópulas.

Araque Emmanuel, Urbina Daniela, Morillo Marielba, Rojas-Fermín Luis, Carmona Juan

Estudio de la composición de los aceites esenciales de las hojas y flores de *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br. (Lamiaceae).

Gil Otaiza Ricardo

Revista de la Facultad de Farmacia. Seis décadas de trayectoria.



El Consejo de Desarrollo, Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes es el organismo encargado de promover, financiar y difundir la actividad investigativa en los campos científicos, humanísticos, sociales y tecnológicos.

Objetivos Generales:

El CDCHTA, de la Universidad de Los Andes, desarrolla políticas centradas en tres grandes objetivos:

- Apoyar al investigador y su generación de relevo.
- Vincular la investigación con las necesidades del país.
- Fomentar la investigación en todas las unidades académicas de la ULA, relacionadas con la docencia y con la investigación.

Objetivos Específicos:

- Proponer políticas de investigación y desarrollo científico, humanístico y tecnológico para la Universidad. Presentarlas al Consejo Universitario para su consideración y aprobación.
- Auspiciar y organizar eventos para la promoción y la evaluación de la investigación.
- Proponer la creación de premios, menciones y certificaciones que sirvan de estímulo para el desarrollo de los investigadores.
- Estimular la producción científica.

Funciones:

- Proponer, evaluar e informar a las Comisiones sobre los diferentes programas o solicitudes.
- Difundir las políticas de investigación.
- Elaborar el plan de desarrollo

Estructura:

- Directorio: Vicerrector Académico, Coordinador del CDCHTA

.

- Comisión Humanística y Científica.
- Comisiones Asesoras: Publicaciones, Talleres y Mantenimiento, Seminarios en el Exterior, Comité de Bioética.
- Nueve subcomisiones técnicas asesoras.

Programas:

- Proyectos.
- Seminarios.
- Publicaciones.
- Talleres y Mantenimiento.
- Apoyo a Unidades de Trabajo.
- Equipamiento Conjunto.
- Promoción y Difusión.
- Apoyo Directo a Grupos (ADG).
- Programa Estímulo al Investigador (PEI).
- PPI-Emeritus.
- Premio Estímulo Talleres y Mantenimiento.
- Proyectos Institucionales Cooperativos.
- Aporte Red Satelital.
- Gerencia.

www.ula.ve/cdcht E-mail: cdcht@ula.ve
Telf: 0274-2402785/2402686 Alejandro Gutiérrez
Coordinador General

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS

Decano(e)

Dra. Angela Lugo

Director de la Escuela de Bioanálisis

Dra. Ana Carolina Ramírez

Director de la Escuela de Farmacia

Msc. Robert Lobatón

Director del Instituto de Investigaciones

Dr. Luis B. Rojas

Director de la Oficina de Relaciones

Interinstitucionales

Dr. José Nelson Aranguren

La Revista de la Facultad de Farmacia, posee acreditación del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes. Universidad de Los Andes-Venezuela (CDCHTA-ULA).

Esta publicación está indizada en REVENCYT, Sistema de Publicaciones Scielo, Periódica (UNAM- México), IMBIOMED, Base de datos LILACS producida por BIREME y LIVECS, y Latindex México.

Incluida en el Registro de Publicaciones Científicas y Tecnológicas del FONACIT.

ISSN 0543- 517-X Depósito Legal pp 1958 02 ME 1003

ISSN 2244-8845 Electrónico Depósito Legal ppi 2012 02 ME 4102.

La Revista de la Facultad de Farmacia se exime de compromisos con la opinión y enfoques vertidos por los autores de los materiales publicados en ella. Queda prohibida, sin la autorización del Comité Editorial, la reproducción total o parcial de los trabajos incluidos en este volumen, por cualquier medio. La misma asegura que los editores, autores y árbitros cumplen con las normas éticas internacionales durante el proceso de arbitraje y publicación. Del mismo modo aplica los principios establecidos por el Comité de Ética en Publicaciones Científicas (COPE). Igualmente, todos los trabajos están sometidos a un proceso de arbitraje y de verificación por plagio.

COMITÉ EDITORIAL

EDITORA

Dra. Janne Rojas

Instituto de Investigaciones

EDITORES HONORARIOS

Dr. Alfredo Usubillaga

Instituto de Investigaciones

Dr. Ricardo Gil Otaiza

Dpto. de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos

Dra. Beatriz Nieves Blanco

Dpto. de Microbiología y Parasitología

CUERPO EDITORIAL

Dr. Alexis A Buitrago Díaz

Dpto. de Análisis y Control

Dr. Julio Rojas

Dpto. de Toxicología

Dra. María Eugenia Rondón

Dpto. de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos

MSc. Gina Meccia,

Instituto de Investigaciones

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

Dirección de Canje (Postal Address)

Prolongación Av. Humberto Tejera, Sector Campo de Oro, detrás del IAHULA, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Edificio Carlos Edmundo Salas, 1er piso. ULA. Mérida. República Bolivariana de Venezuela. Código Postal 5101 Teléfono: +58-274-2403561. Fax: +58-274-2403568

Dirección electrónica:

revfarm@ula.ve y revfarm@hotmail.com



Todos los documentos publicados en esta revista se distribuyen bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-Compartir-Igual 4.0 Internacional. Por lo que el envío, procesamiento y publicación de artículos en la revista es totalmente gratuito.

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Universidad de Los Andes Facultad de Farmacia y Bioanálisis Biblioteca "Ismael Valero"

Esta versión digital de la revista de la Facultad de Farmacia, se realizó cumpliendo con los criterios y lineamientos establecidos para la edición electrónica en el año 2020.

Publicada en el repositorio institucional SaberULA

Universidad de Los Andes-Venezuela

www.saber.ula.ve, info@saber.ula.ve.



Esta revista ha sido financiada por el
Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico Tecnológico y de las Artes
(CDCHTA)