



Perfiles

Perf: Número 15
Vol. 1-2016
ISSN 1390-5740
ISSN 2477-9105

Física Aplicada
Ciencias Biológicas
Ciencias de la Salud
Química Aplicada
Matemática Aplicada
Energías Alternativas



Ing. Hugo Moreno Ph.D
Director del Instituto de Investigaciones

Revista Internacional Arbitrada
Distribución libre

CORRESPONDENCIAS Y SUSCRIPCIONES:

Revista Perfiles
Panamericana Sur, km 1 ½
Riobamba, Ecuador
Telef.: (593) (03) 2998200 ext 161
e-mail: revistaperfiles@epoch.edu.ec

PERFILES (ISSN 1390-5740) es una revista científica semestral publicada por la
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
(ESPOCH, Riobamba – Ecuador)
Año XX
Número 15

CUERPO EDITORIAL:

EDITOR

Celso Guillermo Recalde Moreno
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
Facultad de Ciencias (Chimborazo, Ecuador). crecalde672000@yahoo.com

CO-EDITOR

Manuel Morales Yuste
Universidad de Granada
Facultad de Farmacia (Granada, España). manumorayus@hotmail.com

COMITÉ EDITORIAL:

Dr. Benito del Castillo García
Universidad Complutense de Madrid
Académico Numerario de la Real Academia de Farmacia (Madrid, España)

Dr. Salvador González Carcedo
Universidad de Burgos
Facultad de Ciencias (Burgos, España).

Dr. Andrés León Leal
Universidad de Los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). leonand@ula.ve

Dr. Félix D. Andueza Leal
Universidad de Los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). anduezaf@ula.ve

Francisco Morillas Márquez
Universidad de Granada
Facultad de Farmacia (Granada, España). fmorilla@ugr.es

Dr. César A. Cisneros Ramírez
Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría
Centro de Estudios de Tecnologías Energéticas Renovables (La Habana, Cuba). cesar@ceter.cujae.edu.cu

Dr. David Jaramillo Abril
Universidad Nacional de Chimborazo
Instituto de Ciencia e Innovación, Tecnología y Saberes (Chimborazo, Ecuador). djaramillo@unach.edu.ec

Dr. Jorge L. Mírez Tarrillo
Universidad Nacional de Ingeniería. (Lima, Perú). jmirez@uni.edu.pe

Dr. Carlos F. Ávila Vega
Escuela Politécnica Nacional
Facultad de Ingeniería Mecánica (Quito, Ecuador). cavila67@caltech.edu

Dr. Jenny M. Moreno Mora
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
Facultad de Ciencias (Chimborazo, Ecuador). jennymorenom@yahoo.com

Dr. Plácido Moreno Beltrán
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
Facultad de Informática y Electrónica (Riobamba, Ecuador). placidomorenobeltran@gmail.com

COMITÉ CIENTÍFICO:

DIRECTOR

Juan Marcelo Ramos Flores
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
Facultad de Ciencias (Chimborazo, Ecuador). jmarceloramos@gmail.com

MIEMBROS

Gerardo E. Medina Ramírez
Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). medinag47@gmail.com

Adriana C. Rincón Alarcón
Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). rinconadri@yahoo.com

Morella L. Guillén Ferraro
Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Mérida, Venezuela). morellaguillen@hotmail.com

José Mejía López
Pontificia Universidad Católica de Chile
Facultad de Física (Santiago, Chile). jmejia@puc.cl

Rubén Mario Caffera
Universidad de la República
Facultad de Agronomía (Montevideo, Uruguay). rmcaffera@yahoo.com

John Martin Evans
Universidad de Buenos Aires
Facultad de Arquitectura (Buenos aires, Argentina). evansjmartin@gmail.com

Silvia de Schiller
Universidad de Buenos Aires
Facultad de Arquitectura (Buenos aires, Argentina). sdeschiller@gmail.com

María Cruz Tornay
Revisora de Redacción

DISEÑO, DIAGRAMACIÓN E IMPRESIÓN

Editorial Politécnica ESPOCH
Dirección de Publicaciones
Instituto de Investigaciones
Maycol Abrigo, Lic. Blanca Naula MSc.
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

CONTENIDO:

COMPARACIÓN INTERLABORATORIOS DE PARÁMETROS CLÍNICOS RELACIONADOS CON EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO Julio Idrovo-Novillo, Irene Gavilanes-Terán.....	4
ANÁLISIS DEL ECOSISTEMA PÁRAMO IGUALATA FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO EN BASE A LOS RECURSOS NATURALES Miguel Carrasco, Alex Padilla, Magdy Echeverría.....	11
DETECCIÓN ELECTROQUÍMICA DE VIRUS EN MUESTRAS DE AJO ALLIUM SATIVUM L. CULTIVADAS EN EL PARAMO ANDINO DE VENEZUELA Sabino Menolasina, Dianaly Rodríguez	17
MONITORING OF THE MICROBIAL POPULATION OF THE PÁRAMO SOIL OF THERE CHARGE ZONE OF LAKE MAPAHUIÑA IN CHIMBORAZO-ECUADOR Cristina Calderón, David Jaramillo, Anita Ríos, Guido Brito	23
MORPHOMETRIC ANALYSIS OF MICRO-WATERSHEDS IN ACHUPALLAS PARISH, SANGAY NATIONAL PARK, ECUADOR USING GIS TECHNIQUES Diego-Armando Damian, Silvia-Alexandra Salazar-Huaraca, Marco-Vinicio Rodríguez-Llerena, Anita-Cecilia Ríos-Rivera y Franklin-Enrique Cargua-Catagna	31
PREVALENCIA Y DITRIBUCIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO (HPV) EN ANORMALIDADES EN CÉLULAS EPITELIALES DEL CUELLO UTERINO Morelva Toro de Méndez, Mercedes López de Sánchez	40
ESTUDIO DE COMPLEJOS INTERMOLECULARES EN FASE GASEOSA A PARTIR DE ESPECTROS ROTACIONALES DE MICROONDAS CON INYECCIÓN PULSADA Robert Cazar	51
IMPLEMENTATION OF TANGENTIAL KICKING FOR A SOCCER ROBOT Paulina Vélez, Diego Andrade, Gustavo Guevara	55
INSTRUCCIONES A LOS AUTORES	67

COMPARACIÓN INTERLABORATORIOS DE PARÁMETROS CLÍNICOS RELACIONADOS CON EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO

J. Idrovo-Novillo^{1*}, I. Gavilanes-Terán¹.

Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ¹,
EC060155-Riobamba (Chimborazo), Ecuador

*e-mail: julio.idrovo@espoch.edu.ec; Telephone: 03-2601331

R esumen

La diabetes es una enfermedad que afecta a la población con niveles de prevalencia en aumento, asociada principalmente a trastornos metabólicos de glucosa, triglicéridos y colesterol total. Su detección temprana a través de los análisis clínicos coadyuva a la prevención de los problemas de la salud, por lo que la confianza en sus resultados es fundamental para el diagnóstico de la enfermedad. En este trabajo, se compararon los resultados de colesterol, glucosa y triglicéridos obtenidos en 4 diferentes laboratorios de la provincia de Chimborazo mediante el método espectrofotométrico, en 61 muestras sanguíneas de jóvenes voluntarios de ambos sexos entre 19 y 22 años. Los resultados de colesterol y glucosa fueron significativamente diferentes al nivel del 5%. Las concordancias de los resultados de colesterol, glucosa y triglicéridos fueron del 85,2%, 91,8% y 86,9%, respectivamente. Las inconsistencias de los resultados pueden conducir a un diagnóstico equivocado por parte de los médicos que se apoyan en las pruebas clínicas.

Palabras clave: glucosa, laboratorio clínico, colesterol, triglicéridos, ANOVA

A bstract

Diabetes is a disease that affects the population and whose prevalence levels are rising, mainly related to metabolic disorders of glucose, triglycerides and total cholesterol. Early detection through clinical analysis contributes to the prevention of diseases, so confidence in the results is essential for the diagnosis of the disease. In this paper, the results of cholesterol, glucose and triglyceride levels, which have been obtained in 4 different laboratories in the province of Chimborazo by the spectrophotometric method in blood samples from 61 young volunteers of both sexes between 19 and 22 years, were compared. The results of cholesterol and glucose were significantly different at the 5% level. The concordance of results of cholesterol, glucose and triglycerides were 85.2%, 91.8% and 86.9%, respectively. Finally, the inconsistencies in results can lead to wrong analysis by physicians who rely on clinical diagnostic tests.

Key words: glucose, clinical laboratory, cholesterol; triglycerides, ANOVA

Introducción

En Ecuador, la diabetes es una enfermedad endócrino metabólica que afecta a la población con tasas cada vez más elevadas. Según la encuesta ENSANUT-ECU (1), la prevalencia de diabetes en la población de 10 a 59 años es de 1.7%. Entre los principales factores de riesgo se encuentra el sobrepeso y la obesidad, observándose en los últimos 20 años un aumento de la prevalencia de obesidad entre niños y adolescentes (2). El sobrepeso y obesidad en la población adolescentes entre 12 a 19 años es del 26,0% y entre los 20 > 60 años de 62,8% (3). La diabetes se halla asociada a trastornos metabólicos vinculados al metabolismo de la glucosa, de los triglicéridos (TAG), y colesterol total, entre otros parámetros, por lo que su detección temprana a través del análisis clínico de los principales metabolitos involucrados, es importante como medida de prevención en salud.

Por lo tanto, la fiabilidad de las pruebas biológicas en nuestro país, es un tema importante para el cuidado del paciente en términos de salud pública y que implica altos riesgos económicos. En consecuencia, las mediciones clínicas deben ser fiables y comparables para garantizar una gestión eficaz del paciente (4). Entre el 60% a 70% de las decisiones médicas se basan en los resultados de las pruebas de diagnóstico in vitro (5), y los resultados dependen en su mayor parte del tipo de método utilizado para el análisis y muchas veces pueden no ser comparables entre los laboratorios clínicos.

Los datos no fiables desde el punto de vista económico, conducen a la repetición innecesaria de ensayos que generan gastos de salud pública evitables (6). Cuando son utilizadas correctamente, las pruebas de laboratorio ofrecen críticamente información

importante que permite a los profesionales en salud, diagnosticar y controlar a los pacientes, pero cuando se utilizan inadecuadamente en cualquier etapa del proceso de pruebas (análisis previo, durante el análisis o post análisis), las pruebas de laboratorio pueden producir resultados erróneos que ponen en peligro la salud y seguridad del paciente (7).

Se han realizado varios estudios a nivel internacional con la finalidad de comparar los resultados clínicos entre diferentes laboratorios. Se ha comparado la precisión diagnóstica de pruebas sanguíneas incluida la medición de los niveles de colesterol total para la evaluación de la fibrosis hepática, frente a la biopsia hepática, en pacientes no tratados con hepatitis crónica tipo C (8). Se ha estudiado la concordancia que deben tener los resultados entre laboratorios clínicos para la toma de decisiones analizando entre varios parámetros clínicos, el colesterol total y los niveles de TAG, obteniéndose una concordancia entre el 85 al 89% de los resultados (9).

Se han realizado estudios sobre la supervisión de concentraciones sanguíneas de iones metálicos en casos de pacientes con implantes de metal en la cadera, donde se ha evaluado la reproducibilidad de los valores de los niveles de iones metálicos en diferentes laboratorios, y los resultados han sido concluyentes al indicar que existen diferencias significativas entre laboratorios, debido a las diferentes tecnologías utilizadas para sus mediciones (10). Ha sido estudiada la reproducibilidad de los resultados en la medición de glucosa sanguínea para la detección de la diabetes y su relevancia fisiopatológica en individuos sanos y diabéticos (11).

Se han estudiado los errores comunes encontrados durante el proceso de análisis de pruebas de laboratorio y se han examinado varias prácticas establecidas que ayudan a maximizar los beneficios de los resultados de las pruebas de laboratorio clínico (7). Sin embargo, no existe suficiente evidencia científica en el país, que, indique que los resultados obtenidos en los diferentes laboratorios clínicos son iguales o que por lo menos guardan concordancia entre sí a pesar de que han sido realizados con la misma técnica de análisis. Por lo que el objetivo de este trabajo, fue realizar un estudio comparativo entre los resultados obtenidos de los principales marcadores de la diabetes: glucosa, TAG y colesterol total en diferentes laboratorios de la provincia.

La calidad de una medida depende tanto de su validez

como de su fiabilidad, que indica hasta qué punto se obtienen los mismos valores medidos en más de una ocasión, bajo condiciones similares (12). La concordancia entre variables es muy importante en la práctica clínica y es afectada tanto por la variabilidad de los observadores como por la variabilidad del instrumento de medida o por el propio proceso a medir (12). La sustitución de una antigua técnica de medida requiere que la nueva técnica concuerde suficientemente (13, 14). A menudo se analiza utilizando coeficientes de correlación, pero puede ser engañoso (14), debido a que el concepto de correlación lineal no es igual al de concordancia (15). Altman and Bland (13) proponen un gráfico sencillo para evaluar la concordancia entre dos métodos de medida, en el cual se representa la diferencia entre cada pareja de valores frente a su media (13-15). Para cuantificar la fiabilidad de las mediciones de variables cuantitativas continuas, se usa el coeficiente de correlación intraclase que estima el promedio de las correlaciones entre todos los pares de observaciones (12, 16)

Procedimiento experimental

A 61 voluntarios en ayunas (46 mujeres y 15 hombres) con edades comprendidas entre 19 y 22 años, se les extrajo una muestra de sangre que fue inmediatamente dividida en cuatro tubos, llevándose de inmediato cada uno de ellos a los diferentes laboratorios seleccionados para el análisis de colesterol, glucosa y triglicéridos.

Materiales y Métodos

En las muestras sanguíneas se realizaron los análisis de colesterol, glucosa y triglicéridos mediante el método espectrofotométrico en cuatro diferentes laboratorios clínicos. Se realiza un análisis descriptivo para hombres y mujeres. Las medias se compararon utilizando ANOVA de un factor (LABORATORIO) previa verificación de los supuestos de homocedasticidad y de normalidad. La determinación de los subconjuntos homogéneos se realizó a través de la mínima diferencia significativa (DMS). Con los valores de los parámetros clínicos se realizó la correlación lineal, se adaptó el análisis de Bland-Altman para comparación interlaboratorios y se determinó el coeficiente de correlación intraclase. Para determinar la concordancia se calcularon las frecuencias y porcentajes de los resultados clínicos dentro y fuera del rango referencial (9). Las coincidencias son las situaciones en las cuales todos los cuatro laboratorios obtuvieron los resultados dentro o fuera del rango normal.

Todos los análisis y gráficos estadísticos se llevaron a cabo utilizando IBM® SPSS® Statistics 22.

Resultados y Discusión

Los triglicéridos presentan mayor variabilidad con valores de desviación estándar relativa (d.e.r.) entre 0,387 y 0,777; mientras que la menor variabilidad se observa en los valores de glucosa $0,055 \leq \text{d.e.r.} \leq 0,089$. En general, el laboratorio 1 muestra los resultados más homogéneos y el laboratorio 3 los menos homogéneos. De igual forma, los resultados de glucosa (0,090) y triglicéridos (0,0718) son más variables en hombres, en tanto que los resultados de colesterol (0,196) son más variables en mujeres (Tabla 1).

La Tabla 2 muestra que los laboratorios 1 y 4 obtuvieron valores similares de colesterol pero significativamente diferentes de los resultados de los laboratorios 2 y 4. Los valores de glucosa son similares para los laboratorios 1 y 3 y 2, 3 pero muy diferentes de los valores encontrados en el laboratorio 4. Los valores medios de triglicéridos son similares para todos los laboratorios.

El análisis de correlación lineal muestra que, para cada parámetro clínico estudiado, todos los pares de laboratorios están significativamente correlacionados con $p < 0,01$ (Tabla 3), lo cual se puede apreciar en la Figura 1.

En la tabla 4 se pueden observar los límites de concordancia obtenidos por el método de Bland-Altman. Los resultados de glucosa son los que presentan límites de concordancia más bajos, pero en general los intervalos son muy amplios, denotando falta de concordancia de las medidas interlaboratorios.

La tabla 5 muestra los valores del coeficiente de correlación intraclase. De

Género	Labora- torio	Colesterol		Glucosa		Triglicéridos	
		[mg dL ⁻¹]	d.e.r.	[mg dL ⁻¹]	d.e.r.	[mg dL ⁻¹]	d.e.r.
Masculino	1	175 ± 26	0,147	91,2 ± 7,3	0,080	123 ± 86	0,697
	2	149 ± 22	0,148	91,5 ± 7,5	0,082	127 ± 85	0,670
	3	189 ± 25	0,134	91,1 ± 8,0	0,088	140 ± 109	0,777
	4	176 ± 23	0,132	98,6 ± 8,8	0,089	138 ± 106	0,767
	Total	172 ± 28	0,161	93,1 ± 8,4	0,090	132 ± 95	0,718
Femenino	1	168 ± 26	0,154	83,4 ± 4,6	0,055	95 ± 39	0,413
	2	140 ± 24	0,171	87,2 ± 5,6	0,064	88 ± 34	0,387
	3	189 ± 31	0,166	85,2 ± 7,1	0,083	101 ± 50	0,498
	4	173 ± 29	0,167	92,0 ± 5,5	0,060	96 ± 40	0,413
	Total	168 ± 33	0,196	86,9 ± 6,6	0,075	95 ± 41	0,433
TOTAL	1	170 ± 26	0,152	85,3 ± 6,3	0,074	102 ± 55	0,538
	2	142 ± 24	0,166	88,2 ± 6,3	0,072	98 ± 53	0,544
	3	189 ± 30	0,158	86,6 ± 7,7	0,089	111 ± 70	0,635
	4	174 ± 27	0,158	93,7 ± 7,0	0,075	107 ± 64	0,602
	Total	169 ± 32	0,187	88,5 ± 7,5	0,085	104 ± 61	0,584

d.e.r.: desviación estándar relativa

Tabla 1. Valores de colesterol, glucosa y triglicéridos.

acuerdo con la tabla de valoración de la concordancia según los valores del Coeficiente de Correlación Intraclass (CCI) (12), se considera que existe muy buena concordancia en los triglicéridos ($CCI > 0,90$), y buena concordancia en colesterol y glucosa ($0,71 < CCI < 0,90$).

Labora- torio	Colesterol		Glucosa		Triglicéridos	
	[mg dL ⁻¹]		[mg dL ⁻¹]		[mg dL ⁻¹]	
1	170	<i>b</i>	85,3	<i>a</i>	102	<i>a</i>
2	142	<i>a</i>	88,2	<i>b</i>	98	<i>a</i>
3	189	<i>c</i>	86,6	<i>ab</i>	111	<i>a</i>
4	174	<i>b</i>	93,7	<i>c</i>	107	<i>a</i>
F	***		***		NS	

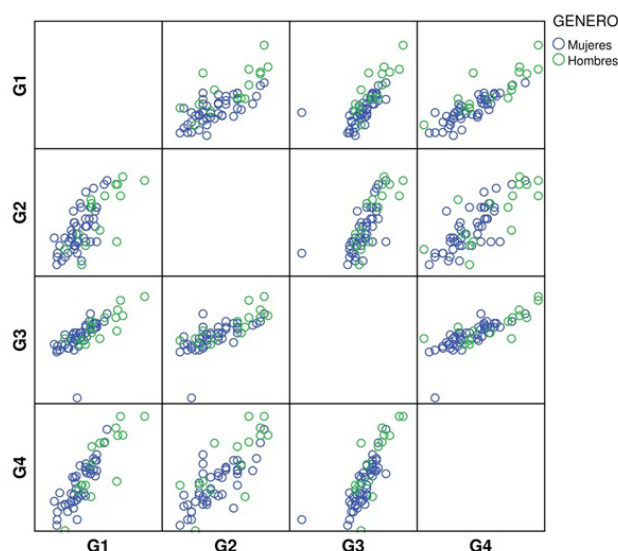
Tabla 2. Comparación por laboratorio. ^a

^a Los valores seguidos por la misma letra no presentan diferencia significativa.

***: diferencia significativa a $P < 0,001$; *: diferencia significativa a $P < 0,05$; NS: no significativa.

En la tabla 6 se observa el número de laboratorios que presentan valores fuera del rango normal para un mismo individuo. Los resultados coincidentes conducen al mismo diagnóstico, mientras que los no coincidentes pueden llevar a diagnósticos equivocados. Las coincidencias de los resultados de colesterol, glucosa y triglicéridos son del 85,2%, 91,8% y 86,9%, respectivamente. Valores similares fueron obtenidos por (9) que reportaron concordancias entre 85 y 89% para colesterol y triglicéridos.

LABORATORIO	COLESTEROL			GLUCOSA			TRIGLICÉRIDOS		
	L2	L3	L4	L2	L3	L4	L2	L3	L4
L1	0,772**	0,896**	0,850**	0,734**	0,740**	0,871**	0,932**	0,901**	0,903**
L2		0,829**	0,787**		0,719**	0,785**		0,928**	0,921**
L3			0,921**			0,798**			0,893**

Tabla 3. Correlaciones entre laboratorios.**Figura 1.** Matriz de correlación de laboratorios para glucosa

	Media	Desv. Est.	Confianza		Concordancia	
			LI	LS	LI	LS
C1-C2	28,02	16,81	23,71	32,32	-5,61	61,64
C1-C3	-19,16	13,29	-22,57	-15,76	-45,75	7,42
C1-C4	-3,93	14,68	-7,69	-0,17	-33,29	25,43
C2-C3	-47,18	16,73	-51,47	-42,89	-80,65	-13,71
C2-C4	-31,95	17,08	-36,33	-27,58	-66,12	2,22
C3-C4	15,23	11,60	12,26	18,20	-7,97	38,43
G1-G2	-2,94	4,61	-4,12	-1,76	-12,17	6,29
G1-G3	-1,32	5,20	-2,65	0,01	-11,71	9,08
G1-G4	-8,36	3,46	-9,24	-7,47	-15,27	-1,44
G2-G3	1,62	5,39	0,24	3,00	-9,17	12,41
G2-G4	-5,42	4,42	-6,55	-4,28	-14,26	3,43
G3-G4	-7,04	4,71	-8,25	-5,83	-16,46	2,38
T1-T2	4,33	19,98	-0,79	9,45	-35,64	44,29
T1-T3	-8,79	31,77	-16,92	-0,65	-72,33	54,76
T1-T4	-4,48	27,73	-11,58	2,63	-59,93	50,98
T2-T3	-13,11	28,88	-20,51	-5,72	-70,87	44,64
T2-T4	-8,80	25,70	-15,39	-2,22	-60,21	42,60
T3-T4	4,31	31,69	-3,80	12,43	-59,06	67,68

Tabla 4. Límites de confianza y de concordancia. LI: límite inferior, LS: límite superior

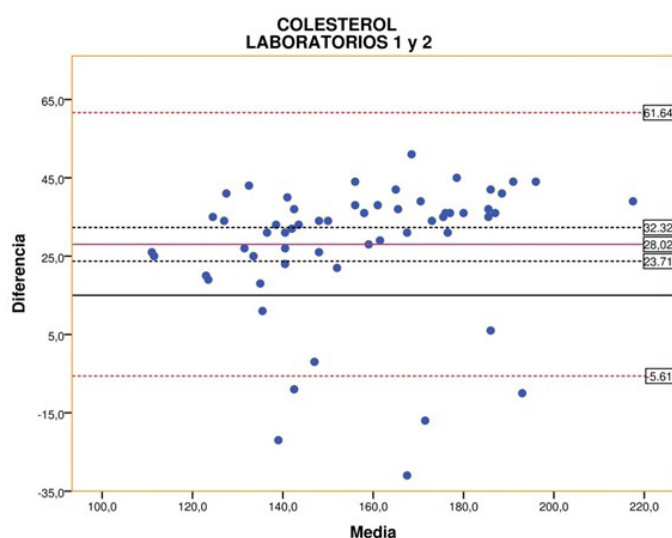


Figura 2. Gráfico de Bland-Altman.

	Correlación ^a	F
Colesterol	0,840	21,946***
Glucosa	0,768	14,216***
Triclicéridos	0,972	35,321***

Tabla 5. Coeficiente de correlación intraclass. a. El estimador es el mismo, esté presente o no el efecto de interacción.

Género	N	Colesterol ^a		Glucosa ^b		Triglicéridos ^c	
Masculino	0	13	86,7%	11	73,3%	11	73,3%
	1	2	13,3%	3	20,0%	0	0,0%
	2	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
	3	0	0,0%	1	6,7%	0	0,0%
	4	0	0,0%	0	0,0%	4	26,7%
Femenino	0	39	84,8%	45	97,8%	35	76,1%
	1	4	8,7%	1	2,2%	4	8,7%
	2	3	6,5%	0	0,0%	2	4,3%
	3	0	0,0%	0	0,0%	2	4,3%
	4	0	0,0%	0	0,0%	3	6,5%
Total	0	52	85,2%	56	91,8%	46	75,4%
	1	6	9,8%	4	6,6%	4	6,6%
	2	3	4,9%	0	0,0%	2	3,3%
	3	0	0,0%	1	1,6%	2	3,3%
	4	0	0,0%	0	0,0%	7	11,5%

Tabla 6. Laboratorios con resultados anómalos coincidentes.

N: Número de laboratorios con resultados anómalos para un mismo paciente.

^a Valor referencial hasta 120 mg dL⁻¹.

^b Valor referencial hasta 105 mg dL⁻¹.

^c Valor referencial hasta 160 mg dL⁻¹ para hombres y hasta 135 mg dL⁻¹ para mujeres.

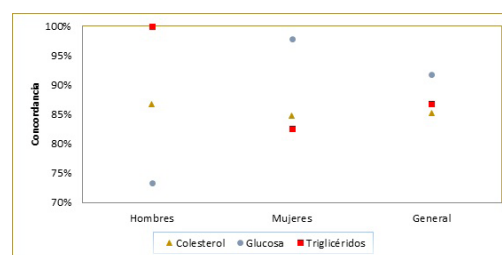


Figura 3. Concordancias de resultados de los análisis clínicos

Conclusiones

Todos los pares de laboratorio están correlacionados linealmente, pero esto no significa que exista concordancia. El 14,8% de los resultados respecto a colesterol (13,3% en hombres y 15,2% en mujeres), 8,2% respecto a glucosa (26,7% en hombres y 2,2% en mujeres), y 13,1% respecto a triglicéridos (0,0% en hombres y 17,4% en mujeres) podrían conducir a un diagnóstico médico equivocado debido a la falta de coincidencia entre los resultados de los diferentes laboratorios en los cuales se realizan los análisis clínicos.

Para mejorar la concordancia de los resultados de diferentes laboratorios sería necesario tener procesos de acreditación de laboratorios.

En el futuro se podrían ampliar los estudios comparativos a otros parámetros clínicos, considerando laboratorios a nivel nacional y en diferentes grupos etario.

Agradecimientos

Un sincero agradecimiento a los estudiantes de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH que contribuyeron voluntariamente para la recolección de las muestras. Al laboratorio clínico de la ESPOCH donde se tomaron y dividieron las muestras.

Referencias

1. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición: ENSANUT 2011-2013. 2012.
2. Souki-Rincón A, Cano-Ponce C, García-Camacho D, Mengual E, González C, Torres D, et al. Variaciones por Edad y Sexo en el HOMAIR, en los niveles de Insulina y Glucosa séricas en niños y adolescentes de Maracaibo-Estado Zulia. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 2007;26:135-141.
3. Freire W.B. RM, Belmont P., Mendieta MJ., Silva MK., Romero N., Sáenz K., Piñeiros P., Gómez LF., Monge R. RESUMEN EJECUTIVO. TOMO I. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del Ecuador. ENSANUT-ECU 2011-2013. Quito: Ministerio de Salud Pública/Instituto Nacional de Estadística y Censos. 2013; p. 23-27.
4. Delatour V, Lalere B, Saint-Albin K, Peignaux M, Hattchouel J-M, Dumont G, et al. Continuous improvement of medical test reliability using reference methods and matrix-corrected target values in proficiency testing schemes: Application to glucose assay. Clinica Chimica Acta. 2012;413(23-24):1872-1880.
5. Forsman RW. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? Clinical Chemistry. 1996;42(5):813-819.
6. Institute of Medicine. To Err Is Human: Building a Safer Health System. Kohn LT, Corrigan JM, Donaldson MS, editors. Washington, DC: The National Academies Press; 2000.
7. Nerenz RD, Pittman ME, Scott MG. Impact of Errors and Variability on Clinical Laboratory Test Interpretation. In: Mitchell LMMN, editor. Pathobiology of Human Disease. San Diego: Academic Press; 2014. p. 3222-3258.
8. Zarski J-P, Sturm N, Guehot J, Paris A, Zafrani E-S, Asselah T, et al. Comparison of nine blood tests and transient elastography for liver fibrosis in chronic hepatitis C: The ANRS HCEP-23 study. Journal of Hepatology. 2012;56(1):55-62.
9. Gialamas A, Laurence CO, Yelland LN, Tideman P, Worley P, Shephard MD, et al. Assessing agreement between point of care and laboratory results for lipid testing from a clinical perspective. Clinical Biochemistry. 2010;43(4-5):515-523.
10. Rahmé M, Lavigne M, Barry J, Cirtiu CM, Bélanger P, Vendittoli P-A. Whole blood metal ion measurement reproducibility between different laboratories. The Journal of Arthroplasty. 2014;29(11):2214-2222.

11. Kramer CK, Vuksan V, Choi H, Zinman B, Retnakaran R. Emerging parameters of the insulin and glucose response on the oral glucose tolerance test: Reproducibility and implications for glucose homeostasis in individuals with and without diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2014;105(1):88-95.
12. Pita Fernández S, Pérttega Díaz S, Rodríguez Maseda E. La fiabilidad de las mediciones clínicas: el análisis de concordancia para variables numéricas. *Cad Aten Primaria*. 2003;10(4):290-296.
13. Altman DG, Bland JM. Measurement in medicine: the analysis of method comparison studies. *The statistician*. 1983; 32: 307-317.
14. Bland JM, Altman D. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The lancet*. 1986;327(8476):307-317.
15. Molinero L. Errores de medida en variables numéricas: Correlación y Concordancia. SEH: Asociación de la Sociedad Española de Hipertensión. 2001.
16. Prieto L, Lamarca R, Casado A. La evaluación de la fiabilidad en las observaciones clínicas: el coeficiente de correlación intraclass. *Medicina Clínica*. 1998;110(4):142-147.

ANÁLISIS DEL ECOSISTEMA PÁRAMO IGUALATA FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO EN BASE A LOS RECURSOS NATURALES

Miguel Carrasco*, Alex Padilla*, Magdy Echeverría*
echeverriamagdy@yahoo.es

Centro de Energías Alternativas y Ambiente*,
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*.

Resumen

Se analizaron los recursos naturales: clima, suelo, flora y agua del páramo de Igualata administrado por la comunidad Pichan Central, provincia de Chimborazo-Ecuador. Se evaluaron las condiciones meteorológicas con una estación portátil durante el período de investigación de once meses, en el cual se emplearon: el método colorimétrico Walkley-Black en el cálculo del porcentaje de carbono orgánico en suelo y biomasa, método del cilindro en la densidad aparente del suelo, el método Gloria en la estimación de la densidad de flora y la Norma INEN, TULSMA en la calidad del agua. Las condiciones meteorológicas promedios en el día establecieron que el clima del páramo de Igualata es frío paramal. Los promedios del contenido de carbono orgánico en las muestras de biomasa y suelo indican que aumenta con la altitud. La densidad aparente del suelo varía de 1,01g/cm³ a 1,24g/cm³. La densidad de flora es 5,73 especies/m². El agua se encuentra dentro de los límites permisibles para consumo y uso recreacional.

palabras claves: ecosistema, páramo, cambio climático, recursos naturales

Abstract

Natural resources (climate, soil, flora, water) were analyzed of Moorland of Igualata managed by the Pichán Central Community of the, Chimborazo province in Ecuador. The meteorological conditions of the moorland were evaluated with its portable station during an eleven months lasting period of research in the which Walkley-Black colorimetric method has been applied in the calculation of the percentage of organic carbon in soil and biomass, as well as the cylinder method for the determination of the apparent density of the soil, Gloria method in the estimation of the density of flora and the norm INEN and TULSMA the indexes of water quality applied. Weather conditions day averages established that the climate is cold moor for the Igualata paramal. The average content of organic carbon in biomass and soil samples indicates an increase with altitude. The apparent density of the soil changes of between 1.01 g/cm³ and up 1.24 g/cm³. The density of flora is of about 5.73 species/m². Water is within the permissible limits for consumption and recreational use.

key words: ecosystem, moor, climate change, natural resources

Introducción

El efecto invernadero es un fenómeno natural que ha permitido la vida en el planeta Tierra (1). El vapor de agua, dióxido de carbono y el metano, permiten a las radiaciones infrarrojas, emitidas por el sol quedar atrapadas en la atmosfera manteniendo así la

temperatura media del planeta (2). En los últimos 800.000 años, las concentraciones atmosféricas de dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) y óxido nitroso (N₂O), han aumentado considerablemente; se calcula que el CO₂ se ha incrementado en un 40 % desde la era preindustrial debido a las emisiones derivadas de los combustibles fósiles y a las emisiones del cambio de uso del suelo (2). El páramo es considerado un ecosistema “tropical de altura” (3), complejo, variado, de clima frío, y muy frágil a los

cambios en el uso de tierra. El páramo es un ecosistema de vital importancia tanto para la conservación de la biodiversidad, mitigación del cambio climático global, tiene la capacidad de capturar carbono y regular el clima, además de presentar atributos biológicos, geográficos, sociales y económicos.

Materiales y Métodos

El páramo de Igualata administrado por la Comunidad de Pichán Central tiene un área de 18584 ha, y una zona de influencia directa es 2693 ha, se encuentra ubicada a 35 km de la ciudad de Riobamba - Provincia de Chimborazo y está conformada de 139 familias, 361 hombres y 334 mujeres, con un porcentaje del 52 % hombres y el 48 % mujeres. Se delimitó y seleccionaron 15 puntos de muestreo 3 por cada altitud, que van desde los 4090 m.s.n.m. hasta los 4130 m.s.n.m de altitud (4).

Punto de muestreo	Altitud (m.s.n.m)	Coordenadas UTM	
		X	Y
1	4090	763078	9834361
2		763082	9834313
3		763088	9834282
4		763104	9834210
5	4100	763112	9834170
6		762889	9834383
7		762893	9834361
8		762926	9834274
9	4110	762951	9834215
10		762975	9834159
11		762745	9834286
12		762771	9834263
13	4120	762808	9834239
14		762883	9834172
15		762917	9834140

Tabla 1. Puntos de muestreo

Condiciones meteorológicas: La determinación de las condiciones climáticas in situ en el páramo de Igualata se realizó mediante una estación meteorología portátil.

Densidad de flora: Para la densidad de la flora se utilizó el método Gloria. Se realizó la identificación y contabilización de especies de flora mediante el establecimiento de 3 transectos, cada uno de ellos subdivididos en 5 puntos de muestreo, separados 10 m de distancia en forma ascendente, comenzando desde los 4090 m.s.n.m. hasta los 4130 m.s.n.m., en total 15 puntos de muestreo. La densidad es un parámetro que permite

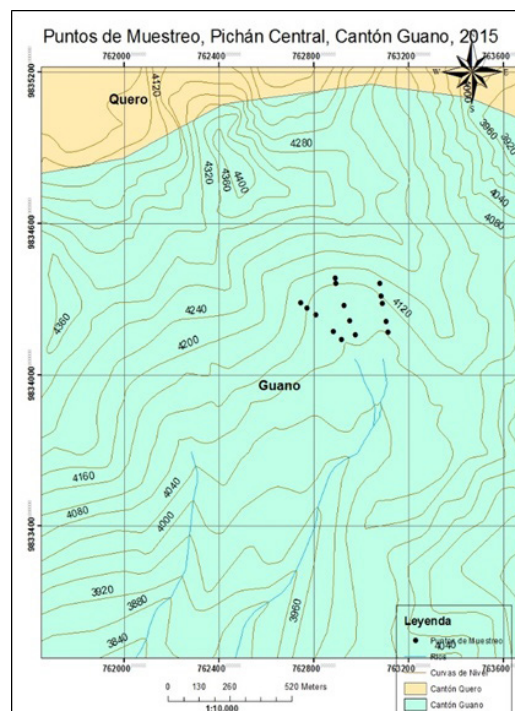


Gráfico 1. Ubicación puntos de muestreo

conocer la abundancia de una especie o una clase de plantas (4).

La densidad (D) es el número de indi-

$$Df = \frac{N}{A}$$

viduos (N) en un área (A) determinada:

Densidad del suelo: Se utilizó el método del cilindro ya que es el más apropiado para suelos irregulares. Se cavaron varias calicatas de 30 cm de profundidad y 30 cm de ancho, con el fin de evitar la presencia de materia orgánica. Se realizaron 3 repeticiones en cada una de las calicatas por las 5 alturas de muestreo.

Carbono orgánico total (COT) Método colorimétrico de Walkley-Black: Este método consiste en colocar una solución estandarizada de dicromato de potasio en la muestra de suelo, posteriormente esta se oxida en un medio ácido (ácido sulfúrico).

La reacción que se produce toma el calor generado por la disolución del ácido, elevando la temperatura y así se logra la oxidación del carbono orgánico.

Se determinó el contenido de carbono orgánico en las muestras de biomasa área (paja y almohadilla) y biomasa terrestre (paja raíz y almohadilla raíz) y en el suelo a distintas profundidades (Tabla 2) en los 15 puntos de muestreo, determinados por las 5 altitudes y en 3 repeticiones (Tabla 1)

Biomasa	Altura
Paja	0-0.50 m sobre el suelo
Paja raíz	0-0.05 m bajo el suelo
Almohadilla	0-0.07 m sobre el suelo
Almohadilla raíz	0-0.08 m bajo el suelo
Suelo	Profundidad
Suelo 1	0-0.70 m
Suelo 2	0.70-1.20 m

Tabla 2. Extracción de muestras de biomasa y suelo.

Fuente: Haro, Echeverría 2012. Determinación de carbono orgánico en la biomasa y suelo del páramo manejado por la comunidad Pichán Central - San Isidro

Calidad del Agua: El análisis de calidad de agua se realizó al humedal principal del páramo y a la Unidad Educativa de la Comunidad Pichan Central siguiendo el protocolo establecido para el análisis físico, químicos y microbiológicos.

Resultados

El análisis del páramo de Igualata se basó en los recursos naturales: suelo, flora, calidad del agua y condiciones meteorológicas.

Análisis realizados a los recursos naturales:

Determinación de las condiciones meteorológicas del páramo de Igualata

Se procedió a la determinación de las condiciones meteorológicas de este ecosistema durante el día.

Variables biofísicas	Periodo 09 de enero del 2015 al 03 de diciembre del 2015				Promedio	Unidad
	09/01/2015	14/05/2015	10/09/2015	03/12/2015		
Velocidad del viento	1,6	1,7	1,9	1,4	1,7	Kt
Ráfaga máx	1,5	1,1	2,9	1,7	1,8	Kt
Velocidad promedio	1,6	5,5	1	1,2	2,3	Kt
Temperatura	8	9,5	15,7	13,9	11,8	°C
Sensación térmica	6,4	10,2	16	11,8	11,1	°C
Humedad	100	100	100	100	100	%
Índice de estrés calórico	9,7	12,1	13,1	12,6	11,9	°C
Punto de rocío	-34	-34	-34	-34	-34	°C
Temperatura de bulbo húmedo	-2,4	-3,6	-0,5	0,4	-1,5	°C
Presión barométrica	629,2	618,1	625	625,7	624,5	hPa
Altitud	3897	3896	3898	3891	3895,5	Ft

Tabla 3. Condiciones climáticas promedio en el Páramo Igualata.

La variabilidad de temperatura en los Andes tropicales depende principalmente de dos aspectos: el gradiente altitudinal y la humedad del aire. Las variables biofísicas representativas promedio en la presente investigación registraron valores promedios durante el día, de temperatura 11,8 °C y una humedad 100 %. Desde los 4.000 m.s.n.m. hay pocas heladas y su ocurrencia está restringida a unas horas antes del amanecer. Período comprendido entre 17 de marzo hasta el 28 de julio 2011, registró valores promedios en el día de temperatura de 6,8 °C y humedad de 95,8 %; lo que podría evidenciar una aparente variación climática, al relacionar los valores obtenidos en el presente estudio y después de 4 años con un aumento de 5 °C en temperatura y 4,2 % en humedad.

Determinación de la densidad de la flora

El resultado de la identificación y contabilización, muestran un total de 26 especies, registradas en familias (1). Las especies de flora representativas establecieron que el páramo de Igualata pertenece a la clasificación de Páramo Herbáceo de Pajonal y Almohadillas, la razón es la combinación de especies de los dos ecosistemas.

$$\begin{aligned}
 AT &= b \cdot h \\
 AT &= (15 \cdot 25) \text{ m}^2 \\
 AT &= 375 \text{ m}^2
 \end{aligned}$$

Finalmente se efectuó el cálculo de DfT:

$$DfT = NT/AT$$

$$DfT = (2148 \text{ especies}) / (375 \text{ m}^2)$$

$$DfT = 5,73 \text{ especies por m}^2$$

El cálculo de la densidad de flora total del páramo de Igualata mostró un valor de $DfT = 5,73$ especies por m^2 , estableciendo una notable biodiversidad florística de este ecosistema y el aporte que generan estas especies a la recolección y filtración de agua proveniente de la lluvia o neblina, siendo posteriormente aprovechada por la comunidad de Pichán Central para consumo y para el desarrollo de la agricultura.

Determinación de la densidad aparente del suelo del páramo de Igualata			
Altura (m.s.n.m.)	Densidad aparente del suelo (g/cm^3)		
	#1	#2	#3
4.090	1,02	1,11	1,01
4.100	1,18	1,09	1,19
4.110	1,08	1,01	1,04
4.120	1,03	1,11	1,16
4.130	1,14	1,24	1,18

Tabla 4. Densidad Aparente del suelo del Páramo de Igualata

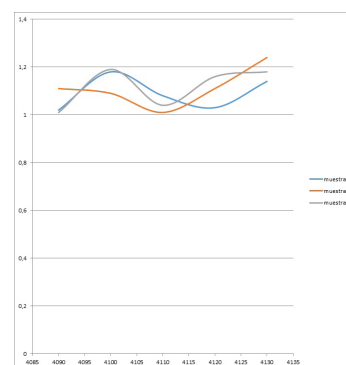


Figura 1. Densidad Aparente vs Altura

La densidad aparente del suelo del páramo de Igualata presenta valores bajos debido a su porosidad, textura y la cantidad de materia orgánica. La densidad aparente es un indicador de la calidad del suelo, estableciendo indicadores de la degradación de la estructura, la resistencia mecánica y la cohesión del mismo.

Determinación del carbono orgánico total en biomasa y suelo

En total se obtuvieron 270 datos provenientes de los 6 materiales utilizados (paja, paja raíz, almohadilla, almohadilla raíz), suelo: 1: 0 - 0,70m y suelo 2: 0,70-1,20m en cada punto de muestreo con 3 repeticiones, estos valores fueron analizados en el programa estadístico INFOSTAT.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de Variación	SC	gl	CM	Fisher Tabulado	Probabilidad
Repetición	155,17	2	77,59	1,42	0,2447
Altura	30178,86	4	7979,72	140,44	<0,0001
Punto de muestreo	381,74	2	190,87	3,49	0,0326
Altura* Punto de muestreo	2150,24	8	268,78	4,92	<0,0001
material	8039,69	5	1607,94	29,41	<0,0001
Altura* material	2051,16	20	102,56	1,88	0,0166
Punto de muestreo* material	747,03	10	74,70	1,37	0.1993
Altura* Punto de muestreo* Material	1522,7	40	38,07	0,7	0.9117
Error	9733,38	178	54,68		
Total	55499,98	269			

Tabla 5. Análisis de la Varianza

Contenido de carbono (t/ha) por altura y material					
Material	4090 msnm.	4100 msnm.	4110 msnm.	4120 msnm.	4130 msnm.
Biomasa	36,16	40,65	86,66	92,27	92,27
Suelo	197,68	454,25	468,56	570	610,39

Tabla 6. Contenido promedio COT (t/ha) por altitud y material

Porcentaje promedio de carbono orgánico por altura y material

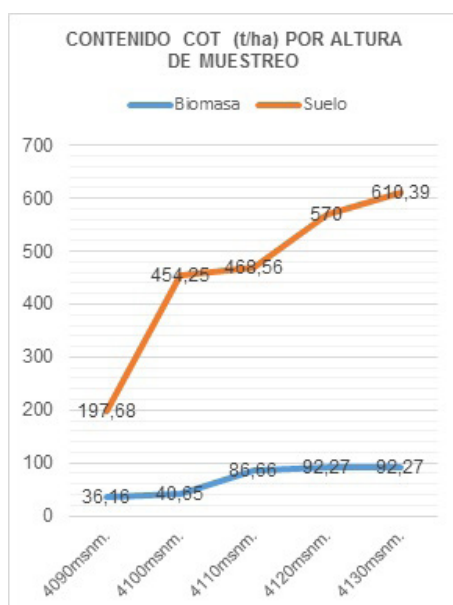


Figura 2. Tendencia del carbono orgánico por material y altura.

En el análisis de Varianza (tabla 5) no se encuentran diferencias significativas en las relaciones: punto de muestreo por material y altura, punto de muestreo por material; sin embargo, existen diferencias significativas: en los puntos de muestreo y en la relación altura por material. En conclusión, existe una relación altamente significativa para la altitud por punto de muestreo el material, como observamos en la fig. 2: el contenido de COT en las muestras de biomasa y suelo aumentan con la altitud del páramo, además existe una mayor concentración de este en las muestras de almohadilla y suelo1.

Análisis de calidad del agua

Se realizó los análisis físico-químicos y microbiológicos del humedal principal y la unidad Educativa de la comunidad de Pichán Central.

Determinación	Unidad	Método	Límites	Humedal	Unidad Educativa
pH	Und.	4500-B	6-9	7,73	7,78
Turbiedad	UNT	2130-B		42	1,2
Conductividad				183	208
Demanda bioquímica de oxígenoT	mg/L	5210-B	100	38	7,8
Sólidos totales disueltos	mg/L	2540-C		96	108
Sólidos sedimentables	mL/L	2540-C		0,5	<0,1
Coliformes fecales	UF C/100mL			ausentes	ausentes

Tabla 7. Análisis de Calidad del Agua

Basándose en la Norma INEN 1108 y en TULSMA, libro 6, anexo 1, tabla 2; los análisis físico-químicos realizados en el humedal y la unidad educativa, indican que los parámetros se encuentran dentro de los límites permisibles para su consumo y uso recreacional, con excepción de la DBO. Sin embargo, el análisis microbiológico es aceptable.

Conclusiones

Las variables biofísicas puntuales determinadas en el páramo de Igualata con la estación meteorológica portátil durante el tiempo de investigación, durante las horas del día registraron valores promedios en el día de: temperatura 11,8 °C y humedad 100 %. La densidad aparente del suelo del páramo varía entre los 1,01 g/cm³ en los 4.090 m.s.n.m. a 1,24 g/cm³ en los 4.130 m.s.n.m; estos valores bajos son indicativos de suelos no cultivados, con una alta porosidad, buen drenaje, excelente penetración de raíces y abundante cantidad de materia orgánica. La densidad de flora de este ecosistema es de 5,73 especies por m² identificándose 26 especies (13 características del sector); estas especies son indicadores de humedad y calidad del suelo, simultáneamente participan en la captación de agua proveniente de la lluvia o neblina que mediante los procesos de infiltración y escorrentía abastecen a los humedales del páramo que proporcionan agua en cantidad y calidad para los comunidades aledañas. El porcentaje de carbono orgánico determinado en las muestras de suelo y biomasa en el páramo de Igualata aumentan con la altitud; existiendo una mayor concentración de éste en la almohadilla y suelo 1 (0-0.70 m de profundidad), estableciendo que el páramo debido a sus características, ubicación geográfica y bajas

temperaturas es un gran captador de carbono orgánico. El estudio de este ecosistema concluye con la participación y socialización de todos los involucrados en la formulación de estrategias para la conservación del mismo.

Agradecimientos

Al Centro de Energías Alternativas y Ambiente (C.E.E.A.)

de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo que cuenta con el auspicio del CDF - Italia, la comunidad Pichán Central y el Consejo Provincial en su afán de conservar y proteger el páramo y su preocupación ante el cambio climático.

Referencias

1. Gabriels, Donald y Lobo, Deyanira. Métodos para determinar granulometría y densidad aparente del suelo. Venesuelos. [En línea] 27 de Mayo de 2010. [Citado el: 12 de Febrero de 2016.] Disponible en: <http://venesuelos.org.ve/index.php/venesuelos/article/view/104/104>.
2. Mostacedo, Bonifacio y Fredericksen, Todd. Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. 1ª ed. Santa Cruz. Bolivia : El País, 2000. pp. 8-31
3. Stoker, Thomas; Qin, Dahe; Kasper Plattner, Gian; Tignor, Melinda; Allen, Simon; Xia, Yu. Cambio Climático 2013 Bases Físicas. GTI. : IPCC, 2013. pp. 1-5
4. Observatorio Nacional de la Degradación de Tierras y Desertificación. Argentina. [En línea] 30 de Marzo de 2012. [Citado el: 2 de Enero de 2016.]. Disponible en: http://www.desertificacion.gob.ar/wp-content/uploads/2014/06/IV.2e_DA_suelo.pdf. pp. 1-2

DETECCIÓN ELECTROQUÍMICA DE VIRUS EN MUESTRAS DE *ALLIUM SATIVUM L.* CULTIVADAS EN EL PÁRAMO ANDINO DE VENEZUELA

Sabino Menolasina*, Dianaly Rodríguez

*Laboratorio de Investigaciones Electroquímicas. Cátedra de Fisicoquímica.
Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes.
Mérida-Venezuela501.
E-mail: *sabino@ula.ve

R esumen

Un inmunosensor electroquímico para detectar la presencia o no de ciertos *Allexivirus* en muestras de ajo *Allium sativum L.* provenientes del Municipio Rivas Dávila (Bailadores) del estado Mérida fue construido y caracterizado empleando la técnica electroquímica, Voltamperometría Cíclica (VC). El inmunosensor posee como elemento de reconocimiento biológico anticuerpos mononucleares anti-*Allexivirus* específicos contra GarV-A, absorbidos sobre un electrodo de carbón vítreo previamente modificado con tiourea (TIO) y monocapas de nanopartículas de oro (AuNPs) sintetizadas en el laboratorio y caracterizadas por Microscopia Electrónica de Transmisión (MET), las cuales fueron intercaladas por atracción electrostática con monocapas de azul de metileno (AM). El inmunosensor mostró una alta especificidad y sensibilidad y permitió detectar la presencia de *Allexivirus* específicos contra GarV-A en las muestras analizadas.

Palabras claves: immuno sensor electroquímico, *Allium Sativum L.*, *Allexivirus*, voltametría cíclica

A bstract

An electrochemical immunosensor for detecting the presence or non-presence of certain *Allexivirus* on garlic samples *Allium sativum L.* from the Rivas Davila municipality (Bailadores) Merida state, was constructed and characterized using the electrochemical technique, cyclic voltammetry (CV). The immunosensor has as biological recognition element, mononuclear *Allexivirus* antibodies specific to GarV-A adsorbed onto a glassy carbon electrode previously modified with thiourea (TIO) and gold nanoparticle monolayers (AuNPs) synthesized in the laboratory and characterized by Transmission Electron Microscopy (TEM), which were interspersed by electrostatic attraction with methylene blue monolayer (AM). The immunosensor showed high specificity and sensitivity to the presence of *Allexivirus* in the analyzed samples.

Keywords: electrochemical immunosensor, *allium sativum l*, *allexivirus*, cyclic voltammetry

Introducción

El ajo (*Allium sativum L.*) es considerado en Venezuela como una hortaliza importante por las excelentes cualidades para la salud y gastronomía (1). Desde el punto de vista económico le ofrece al productor un considerable margen de ganancia a corto plazo en superficies cultivadas

relativamente pequeñas. Las zonas de producción de ajo se concentran en los estados Mérida, Lara, Táchira y Trujillo, siendo el estado Mérida el de mayor producción. El *Allium sativum L.*, ocupa el tercer lugar de importancia dentro del grupo de las hortalizas comercialmente cultivadas en el estado Mérida/Venezuela después de la papa y zanahoria. Esto se debe a que en zonas de cultivo por encima de los 1.000 metros, donde las condiciones tropicales todavía predominan, las condiciones agroecológicas son ideales

para expresar al máximo el potencial de rendimiento y calidad de bulbos de ajo al momento de la cosecha. Sin embargo, a pesar de las condiciones climáticas y de la importancia económica y social que posee esta especie, su producción en el estado Mérida ha disminuido en los últimos años como consecuencia de varios factores, entre los que destacan la carencia de semillas certificadas para la siembra que aseguren el desarrollo y crecimiento de plantas sanas (2). El ajo, aunque es una planta anual, presenta la limitante de que sólo se reproduce de forma asexual; esto lleva a que, en ciclos sucesivos de cultivo, se produzca una acumulación del inóculo de muchos patógenos como, hongos, bacterias y principalmente virus; ocasionando la reducción de los rendimientos y la calidad, con la consecuencia de pérdidas económicas. Los productores venezolanos de ajo hacen uso de los dientes o bulbos de procedencia desconocida como única forma de propagación comercial del cultivo (2). Por la importancia económica y social que el ajo representa para nuestra región andina y el país, es necesario prestar atención a los factores que ocasionan pérdidas a la producción, siendo uno de ellos las enfermedades, y entre éstas, las causadas por los virus. Actualmente la mayoría del ajo que se produce en el estado Mérida está contaminado por virus.

La transmisión de virus en ajo se atribuye principalmente a la reproducción vegetativa de la especie, sin embargo, según lo descrito por Román y Núñez (3), las principales enfermedades virales en ajo encontradas en el estado Mérida son causadas por especies pertenecientes a dos de sus familias formalmente reconocidas: Potyviridae y Flexiviridae. Entre los miembros de la familia Potyviridae se encuentran los virus enanismo amarillo de la cebolla (Potyvirus Onion yellow dwarf virus: OYDV), reportado como causante de achaparramientos y reducción de tamaño del bulbo, y el virus rayado amarillo del puerro (Leek yellow stripe virus: LYSV) causante de mosaico en hojas.

La familia Flexiviridae comprende dos géneros: *Carlavirus* y *Allexivirus*. El primero está representado por el virus latente común de ajo (GCLV), que no produce síntomas aparentes; sin embargo, en combinación con otras especies causa serias pérdidas de cosechas. El segundo, el género *Allexivirus*, se cree que son transmitidos por los ácaros y tienen una organización del genoma similar a la del *Carlavirus*. Este género incluye el virus X de chalote (ShVX) y las líneas de virus de ajo ((Garlic virus A (GarV-A), Garlic virus C (GarV-C), Garlic virus E (GarV-E), Garlic virus X (GarV-X) y las secuencias parciales de otros tres (Garlic mite-borne filamentous virus (GarMbFV), Garlic virus B (GarV-B) and Garlic virus D (GarV-D))

(4-6), causantes de mosaicos leves en hojas. Los autores concluyeron que todo el ajo cultivado porta una o más de estas especies, formando complejos que de no causar síntomas graves pueden ejercer efectos nocivos sobre el comportamiento fenotípico de este cultivo, como bajos rendimientos, calibres reducidos del bulbo y bajo contenido de materia seca.

La sanidad del producto, muy vinculada con la calidad, es de vital importancia para su comercialización, sobre todo para su exportación a otros países. Para el saneamiento del cultivo de ajo en nuestra región andina, además de contar con semillas certificadas, es necesario identificar el tipo de virus que lo afecta en las distintas zonas donde se cultiva, eso solo se consigue a través de análisis inmunológicos, los cuales consisten en una reacción bioquímica que implica el reconocimiento del virus o antígeno (Ag) por un anticuerpo (Ac), al formarse el complejo antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos proporcionan una alta especificidad hacia un determinado antígeno o análogo de interés. Las técnicas inmunológicas son poco accesibles, de costo muy elevado, sus metodologías son complejas y requiere de largos periodos de tiempo para obtener los resultados debido al tratamiento especializado previo que se le debe aplicar a las muestras a ser analizadas. Todo esto hace que no puedan ser utilizadas como rutina para el control de calidad de una variedad de plantas alimenticias en nuestro país.

Los inmunosensores electroquímicos son sensores que se caracterizan por presentar un anticuerpo como elemento biológico de reconocimiento, el cual es el responsable de la especificidad del sensor y junto con un transductor electroquímico transforman la reacción bioquímica en una señal medible electroquímicamente. Debido a la alta especificidad de un inmunosensor y a la sensibilidad que ofrecen las técnicas electroquímicas, la detección de virus presentes en verduras y hortalizas a través del uso de

inmunosensores electroquímicos, podría ser una alternativa de bajo costo para el control sanitario de estos rubros.

Actualmente se encuentra en la literatura numerosos ejemplos de inmunosensores electroquímicos basados en el empleo de nanopartículas de oro como soporte del anticuerpo y el antígeno, ya que éstas proporcionan un ambiente similar a su entorno natural. Además las partículas metálicas actúan como medio de conducción electrónico, facilitando la transferencia electrónica, permitiendo alcanzar elevados niveles de estabilidad y sensibilidad (7).

En el presente trabajo se desarrolló un inmunosensor electroquímico utilizando AuNPs sintetizadas en el laboratorio, como soporte del elemento de reconocimiento biológico (anti-*Allexivirus* específicos contra GarV-A) para detectar la presencia de *Allexi* virus en muestras de ajo empleando VC.

Materiales y Métodos

Reactivos

Los anticuerpos mononucleares anti-*Allexivirus* específicos contra GarV-A, fueron suministrados por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias del Estado Mérida, en sueros concentrados provenientes de conejos. Las muestras de ajo contaminadas con *Allexivirus* provenientes de la población de Bailadores, Municipio Rivas Dávila, Estado Mérida se emplearon como antígenos en los estudios electroquímicos que se realizaron con el inmunosensor. El ácido tetracloroaurico y el citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) utilizados en la síntesis de las AuNPs fueron suministrados por Merck. El azul de metileno ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{C}_1\text{S}$) y tiourea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$) utilizados fueron de grado analítico y suministrados por Merck. Los reactivos utilizados en la preparación de las soluciones electrolíticas fueron de grado analítico de la RDH y utilizados sin ningún tratamiento adicio-

nal de purificación. El agua utilizada fue de calidad Milli Q 18 M Ω (Millipore, Milford, MA, USA). Todos los reactivos fueron utilizados sin ningún tratamiento adicional de purificación. Las soluciones fueron preparadas en agua desionizada de 18 M Ω .cm y ajustadas a pH 6,5.

Tratamiento de la superficie electródica de carbón vítreo (SECV)

Las SECV fue pulida con diferentes grados de alúmina (0,3 y 0,05 μm) provenientes de la Buehler usando agua desionizada como lubricante. Posterior a dicha limpieza mecánica, dicha superficie fue sometida a una limpieza electroquímica por VC en una solución 0,1M HClO₄ aplicando un determinado número de barridos cíclicos entre -0,2 V y 1,7 V. Una vez que la SECV fue tratada siguiendo los pasos descritos anteriormente se procedió a caracterizarla electroquímicamente y a realizar las distintas modificaciones sobre su superficie con la finalidad de desarrollar el inmunosensor electroquímico.

Modificación electroquímica y química de la SECV

La electrodeposición de tiourea sobre la superficie de SECV se hizo siguiendo el procedimiento descrito por Chai et.al. (8). Bajo este procedimiento la TIO es adsorbida sobre la SECV. Posteriormente se procede a colocar sobre la SECV modificada con TIO, 15 μL de una mezcla coloidal de AuNPs, a la cual se le aplica aire frío hasta que el solvente de la mezcla se evapore. Posteriormente esta SECV modificada fue activada por VC en solución buffer fosfato pH 6,7 antes de ser nuevamente modificada alternando capas de AM y AuNPs.

Tratamiento de la muestra

Los antígenos presentes en las muestras analizadas fueron extraídos por trituración en mortero, de las hojas que recubren al bulbo del *Allium sativum*. La muestra triturada fue re-suspendida en solución reguladora de fosfato 0,1 M pH 6,5 y posteriormente filtrada. La solución resultante fue protegida de la luz y guardada a 4°C.

Aparatos

Los experimentos por VC se realizaron utilizando una celda de vidrio de un compartimiento y tres electrodos. Un electrodo de Ag/AgCl (sat) fue utilizado como electrodo de referencia y un alambre de platino como electrodo secundario. Como electrodo de trabajo se utilizó un electrodo de

carbón vítreo (CV) modificado electroquímicamente y químicamente. Los experimentos por VC se realizaron utilizando un potenciostato galvanostato Autolab PGSTAT12. Todo el material de vidrio fue lavado inicialmente con detergente y abundante agua desionizada.

Resultados y Discusión

Para la construcción del inmunosensor se modificó electroquímicamente y químicamente una superficie electródica de carbón vítreo con sustancias orgánicas (TIO y AM) e inorgánicas (AuNPs), de tal forma de que sirvieran de soporte para el anclaje del componente biológico (el anticuerpo).

Primero la TIO fue electrodepositada sobre la superficie de CV utilizando la técnica de VC, ciclando 10 veces entre -0,8 y 1,5 V al electrodo de CV en una solución acuosa de 0,25M de TIO.

Kirchnerová y Purdy (1981) (9), confirmaron que en soluciones ácidas y neutras, la oxidación de tiourea procede por la vía de una reacción de transferencia electrónica lenta de un electrón, reduciéndole a radical $[(\text{NH}_2)_2\text{-C-S-}]^{\cdot+}$ a 0,7 V. La siguiente oxidación de este radical, se da solamente a potenciales más elevados (1,2 V). De hecho, durante la electrolisis de tiourea en medio ácido, se forma un precipitado blanco, identificado como C,C'-ditioformamidiniodinitrato. La TIO fue adsorbida sobre la superficie de carbón vítreo a través de sus grupos funcionales aminos, durante la aplicación de diez barridos de potencial entre -0,8 a 1,5 V a una velocidad de 0,1 V/S por voltamperometría cíclica (10).

La Figura 1 muestra los voltamperogramas obtenidos con el electrodo modificado de CV con tiourea y sin modificar en solución reguladora de fosfato 0,1 M, pH 6,7.

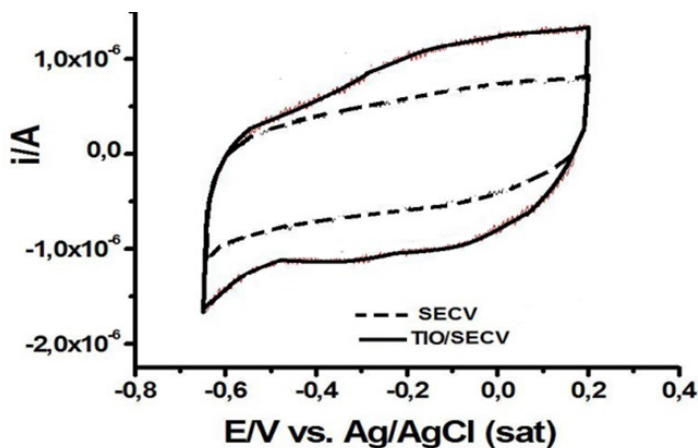


Figura 1. Voltamperogramas obtenidos en solución reguladora de fosfato 0,1 M pH 6,5 con un el sensor sin modificación química (SECV) y con el modificado con TIO (SECV/TIO)

La Figura 2A, muestra el espectro obtenido con una alícuota de las AuNPs sintetizadas por reducción del ácido tetracloroáurico con citrato.

La aparición de un máximo de absorción a 525 nm, es característico de AuNPs con un tamaño de 16 a 20 nm, de acuerdo a los resultados reportados en la literatura (11). La Figura 2B muestra la imagen obtenida por TEM de las AuNPs sintetizadas, observándose que presentan una forma irregular y un tamaño promedio de $16,2 \pm 1,1$ nm.

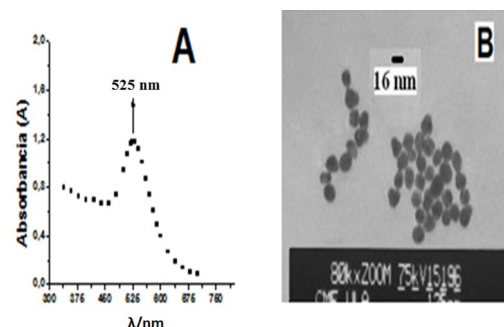


Figura 2. A) Espectro UV/VIS de una mezcla coloidal de oro en medio acuoso obtenido empleado un espectrofotómetro UV/VIS JEWAY y una celda plástica de 1cm de espesor. B) Imagen de AuNPs de oro obtenidas por TEM de las síntesis con citrato de sodio.

La Figura 3, muestra la familia de voltamperogramas obtenidos con el sensor SECV/TIO modificado con diferentes capas de AuNPs/AM en solución reguladora de fosfato 0,1 M, pH 6,7. Las AuNPs que están cargadas negativamente pueden ser adsorbidas sobre la tiourea, el azul de metileno que a un pH de 6,7 está cargado positivamente es atraído fácilmente por las AuNPs. Una vez formado la primera capa de AM/AuNPs sobre el electrodo modificado SECV/TIO, se puede seguir adsorbiendo por atracción electrostática otras capas de AM/AuNPs hasta desarrollar el sensor electroquímico SECV/TIO/(AuNPs/AM)n/AuNPs.

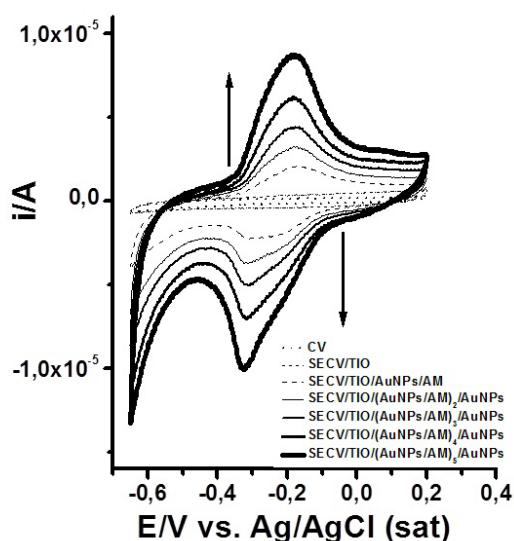


Figura 3. Familia de voltamperogramas obtenidos con el sensor SECV/TIO modificado con diferentes capas de AM/AuNPs en solución reguladora de fosfato 0,1 M, pH 6,7

A medida que se incrementa el número de capas se observa un incremento de una corriente de pico de oxidación. El azul de metileno es un colorante catiónico cargado positivamente con un proceso redox reversible en soluciones acuosas, cuyo potencial formal E^0 varía entre -0,10 y -0,40 (Vs ECS) en un rango de pH de 4 a 11, lo que lo hace un mediador catalítico para diferentes sistemas biológicos (12). El AM en la multicapa actúa como mediador de electrones.

La Figura 4 muestra la respuesta electroquímica del sensor SECV/TIO/(AuNPs/AM)₅/AuNPs al ir siendo modificado con anticuerpos (Ac: anti-*Allexivirus* específicos contra GarV-A) y leche descremada y posteriormente la respuesta electroquímica del inmunosensor construido frente a la presencia de diferentes cantidades del antígeno testosterona. Se observa que la respuesta electroquímica disminuye a medida que se adsorben los anticuerpos y la leche descremada (Ad) como consecuencia del bloqueo de la superficie electroquímica del sensor. Una vez que la superficie electródica se modifica con los anticuerpos y se bloquean los sitios activos donde no se han adsorbidos estos con Ad, se tiene el inmunosensor, el cual al ser evaluado en presencia de

concentraciones variables de antígenos no específicos (testosterona), no muestra ningún cambio en su respuesta electroquímica.

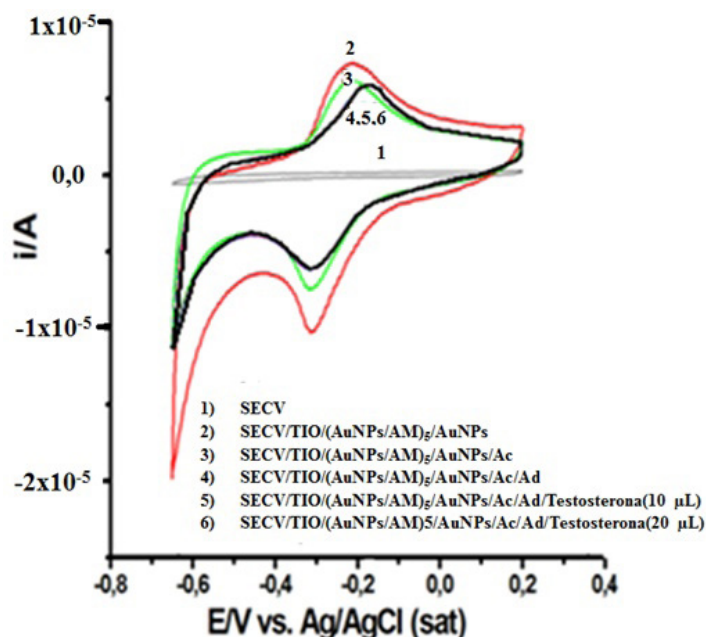


Figura 4. Respuesta electroquímica del sensor SECV/TIO/(AuNPs/AM)₅/AuNPs al ir siendo modificado con anticuerpos (Ac: anti-*Allexivirus* específicos contra GarV-A), leche descremada (Ad) y su comportamiento frente a un antígeno no específico

Al evaluar dicho inmunosensor, SECV/TIO/(AuNPs/AM)₅/AuNPs/Ac/Ad en presencia de diferentes cantidades de una suspensión preparada por trituración de las hojas que recubren al bulbo de muestras de *Allium sativum* provenientes del municipio Rivas Dávila (Bailadores) del estado Mérida y mezclando en solución reguladora de fosfato 0,1 M pH 6,5 y posteriormente filtrada, se observa que el mismo responde al variar la cantidad de suspensión que se agrega a la celda electroquímica. A medida que se adicionan cantidades específicas de la suspensión, la señal del pico de oxidación disminuye de manera proporcional al volumen añadido (Figura 5A y Figura 5B)

En la Figura 5B, se observa que la respuesta electroquímica del inmunosensor decrece linealmente a medida de que se realizan adiciones sucesivas de la suspensión preparada a partir de las hojas que recubren al bulbo de muestras de *Allium sativum*, en la celda electroquímica que contiene solución reguladora de fosfato 0,1 M, pH 6,7. Este comportamiento es indicativo que las muestras de ajos que se procesaron están contaminadas con el virus GarV-A.

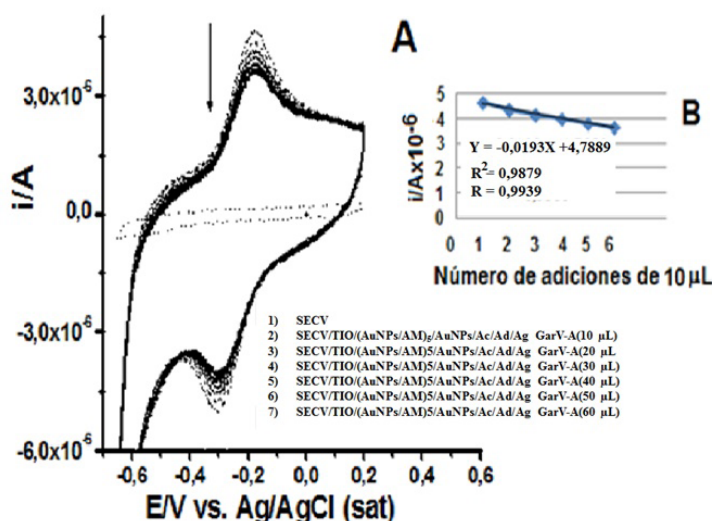


Figura 5. A) Respuesta electroquímica del inmunosensor en presencia del virus GarV-A presente en muestras de ajos provenientes del Municipio Bailadores, Edo. Mérida. B) Comportamiento lineal de I_p vs. Número de adiciones de 10 mL de una suspensión de hojas del bulbo de ajos contaminados con el virus GarV-A

Conclusiones

El inmunosensor SECV/TIO/(AuNPs/AM)5/AuNPs/Ac/Ad desarrollado permitió la detección de Allxivirus en muestras de ajo *Allium sativum* provenientes del municipio Rivas Dávila (Bailadores) del estado Mérida.

La respuesta del inmunosensor presentó una linealidad aceptable, demostrando que el inmunosensor responde de manera proporcional a la concentración de Allxivirus en solución, además la prueba de interferentes demostró que la respuesta del inmunosensor es específica, ya que no hubo respuesta ante la presencias de bacterias interferentes.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico Humanístico Tecnológico y de las Artes de la Universidad de Los Andes (CDCHTA)-ULA, proyecto: FA-517-12-08-A, por la financiación de este trabajo y al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias del Estado Mérida-Venezuela por su colaboración en el suministro de los anticuerpos mononucleares anti-Allxivirus específicos contra GarV-A.

Referencias

1. Pardo A, Marín C. 2003; Caracterización de cultivares de ajo en Cubiro, Estado Lara. *Agronomía Tropical*. 53(4): 381-395.
2. Pardo A, Hernández A, Méndez N. Caracterización molecular de siete clones de ajo (*Allium sativum* L.) mediante la técnica RAPD. *Bioagro*. 2(21): 81-86.
3. Velásquez VR, y Reveles HM. 2012; Manejo de Enfermedades Virales de Ajo en Zacatecas. Folleto Técnico No. 40. Campo Experimental Zacatecas, CIRNOC - INIFAP, 26 p.
4. Ryabov EV, Genozov EV, Vetten HJ, Zavriev SK. 1996; Analysis of the 3-region of the mite born filamentous virus genome testified sits relation to the shallot virus X group. *Mol. Biol.* 30: 103-110.
5. Song SL, Kim JT, Lee CH, Choi JS. 1998. Molecular characterization of the garlic virus X genome. *J. Gen. Virol.* 79: 155-159.
6. Sumi S, Matsumi T, Tsuneyoshi T. 1999. Complete nucleotide sequences of garlic viruses A and C, members of the new lyratifiedgenus Allxivirus. *Arch Virol* 144: 1819-1826.
7. Ma H, Sun J, Zhang Y, Bian C, Xia S, Zhen T. 2016. Label-free immunosensor based on one-step electrodeposition of chitosan-gold nanoparticles biocompatible film on Au microelectrode for determination of aflatoxin B1 in maize. *Biosens & Bioelectr.* 22-29.
8. Chai R, Yuan R, Chai Y, Ou Ch, Cao Sh, Li X. 2008. Amperometric immunosensors based on layer-by-layer assembly of gold nanoparticles and methylene blue on thiourea modified glassy carbon electrode for determination of human chorionic. *Talanta*. 74(5): 1330-1336.
9. Kirchnerová J, Purdy W. The mechanism of the electrochemical oxidation of thiourea. *Analytica Chimica Acta*, 123: 83-95.
10. Menolasina S, De Oliveira MI, Travieso C. Superficies de carbón vítreo modificadas con compuestos orgánicos y nanopartículas de oro como sensores de dopamina. *Avances en Química*. 8(3): 139-144
11. Cai H, Xu C, He P, Fang Y. Colloid Au-enhanced DNA immobilization for the electrochemical detection of sequence-specific DNA. *J. Electroanal. Chem.* 510: 78-85.
12. Li M, Gao F, Yang P, Wang L, Fang Y. Conveniently assembling dithiocarbamate and gold nanoparticles onto the gold electrode: A new type of electrochemical sensors for biomolecule detection. *Surf. Sci.* 602: 151-155.

MONITORING OF MICROBIAL POPULATION OF THE PÁRAMO SOIL OF THE CHARGE ZONE OF LAKE MAPAHUIÑA IN CHIMBORAZO-ECUADOR

Cristina Calderón^{1*}, David Jaramillo¹, Anita Ríos¹, Guido Brito²

Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH)¹, Av. Antonio José de Sucre
Km ¹¹/₂ vía a Guano, Riobamba, Ecuador. *email: cristy.gct@gmail.com
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH)², Panamericana Sur km
11/2, Riobamba, Ecuador.

R esumen

La presente investigación analiza la presencia de microorganismos en los suelos de la zona de recarga de la Laguna Mapahuiña, Ecuador. Cuenta con gran diversidad microbiana que caracteriza un ecosistema *páramo* con presencia de suelos ácidos, como otros suelos volcánicos paramunos analizados en la región. El análisis microbiano general reveló una considerable cantidad de microorganismos en la región de estudio, no se encontró correlación significativa respecto a las características físicas y químicas obtenidas. La concentración más alta ($5,5 \times 10^5$ células / mm³) de microalgas se presentó a orillas de la laguna Mapahuiña, en contraste con el área de bosque de pino ($1,7 \times 10^5$ células / mm³). El crecimiento de microalgas mostró diferencias significativas con respecto al pH, humedad relativa del suelo, y el tipo de vegetación con temperatura del suelo relativamente homogénea. Nuestro estudio es la primera investigación de la zona y presenta las bases para revelar cepas microbianas de interés biotecnológico.

Palabras claves: suelo, *páramo*, bacteriana, microalgas, recuento microbiano

A bstract

The present investigation analyzed the presence of microorganisms in soils of the recharge zone of the Lake Mapahuiña, Ecuador. The location has a large microbial diversity which is characterized by a *páramo* ecosystem presenting acidic soil types, which coincides with other paramunos volcanic soils analyzed in the region. The general microbial analysis revealed a considerable amount of microorganisms in each region of study, with no significant correlation found regarding the physical and chemical characteristics measured. For microalgae, the banks of the Lake Mapahuiña had the highest concentration ($5,5 \times 10^5$ cells/mm³) in contrast to the Pine forest area ($1,7 \times 10^5$ cells/mm³). Microalgae growth showed significant differences with respect to pH, relative soil humidity, and vegetation type with soil temperature relatively homogeneous. Our study is the first investigation of the area and presents the foundation for unearthing microbial strains of biotechnological interest.

Keywords: soil, *páramo*, bacterial, microalgae, microbial count

Introduction

The *páramo* is an ecosystem composed of grasslands combined with small remaining vestiges of native forest and in recent years an increased presence of foreign plantations. In South America it extends from Costa Rica to northern

Peru and Bolivia, covering the Andes region with altitudes ranging from 3000 to over 4800 meters above sea level (1). Given its hydro-physical properties, it has a high capacity to retain water due to the andosol soils of volcanic origin with a presence of peat and a dense herbaceous vegetation cover (2). Due to the altitude at which it is located, the temperature decreases and there is a presence of fog (3). Being in the Equatorial region, the

climate is stable throughout the year, although there is a marked difference between day and night, with overnight temperatures dropping significantly. Yet the *páramo* shows a great diversity of living systems such as plants, birds, amphibians, mammals and a microbiological component (4,5).

Despite the topographical variability, andosols of the *páramo* are defined by a remarkable homogeneity in their physicochemical properties (6,7). The degradation and changes in land use threaten the hydrology of the *páramo* by influencing the cycles of carbon, nitrogen, sulfur and phosphorus (2,8), which are implicated in the activity of soil microorganisms and soil mineralization processes (9,10). Among the colonizing *páramo* soil microorganisms are the microalgae (11), which generally grow with low insolation and are exposed to extreme seasonal fluctuations in temperature UV radiation and desiccation.

They also serve as potential bio-indicators of the degree of conservation of the ecosystem (12,13). In addition to its role in regulating soil properties, microalgae are also the source of biomolecules and metabolites of great economic importance used primarily in food, medicines, fertilizers and biofuels (14–16) motivating further scientific efforts to discover new microorganisms, as in the newly identified cyanobacteria found in the *páramo* zone of Costa Rica (17). Algal activity depends on the internal cycles and partnerships between these microorganisms, interactions with organic and inorganic nutrients derived from animal or vegetable debris and exposure to surface runoff (18). Furthermore, *páramo* soil microalgae are capable of creating symbiotic associations with other soil microorganisms like bacteria, promoting the growth of plants through the production of the auxin indole-3-acetic acid (19).

In Ecuador, the *páramo* is located in the highlands of the Andes occupying an area of approximately 12,650 km², about 5% of the territory. According to Mena (4), Ecuador is the country with the largest amount of *páramo* with respect to its land extension, yet little is known about its edaphic fauna and even less of its vast microalgae wealth. This research aims to conduct monitoring of the population of soil microorganisms, with special emphasis on microalgae, by determining whether physicochemical soil variables such as pH, moisture and temperature influence their distribution and concentration.

Materials and Methods

Area of study

This study was conducted in the recharge zone of Lake Mapahuiña (9742946 N, 747817 E) in the Sangay National Park (Chimborazo Province), which belongs to the microbasin of the Zula River, having an oval-oblong morphometry of 281,542 ha of mainly sandy loam soil. The average daily temperature is between 6-12°C, with a daytime maximum of 15°C and a night-time minimum of 3°C recorded.

The annual rainfall of the zone is between 700-1000 mm. The life zones in its *páramo* grassland ecosystem include lower montane dry and wet forests which contribute to its vast ecological diversity (20, 21). The samples were collected and analyzed weekly between September and December 2013, months in which the weather conditions were suitable to attend the study site. Figure 1 outlines the various sampling areas according to land use which include: Region 1: *páramo* vegetation, with *Culcitium canescens* Humb. & Bonpl, *tristerix longibracteatus* and the endemic grass *Stipa ichu*; Region 2: *Azorella aretioides*

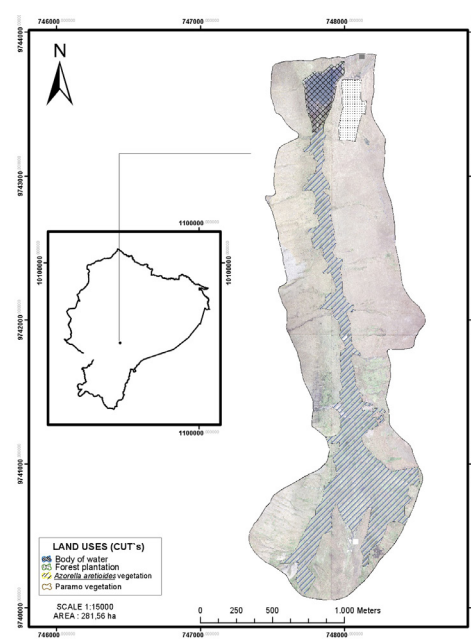


Figure 1: Map of study area: Region 1, páramo vegetation; Region 2, *Azorella aretioides* vegetation; Region 3, *Pinus radiata* forest and Region 4, Contours of lake Mapahuiña

vegetation, incorporating *Stipa ichu*, *Lachemilla orbiculata* and the grass *Calamagrostis intermedia*; Region 3: *Pinus radiata* forest and Region 4: the contours of Lake Mapahuiña, composed of volcanic rocks and *Azorella aretioides* (21).

Soil sampling

The sampling scheme was based on the surface density of land use (20) together with the aid of base mapping, accessibility and satellite imagery, placing 86 monitoring points in the recharge zone of Lake Mapahuiña (Figure 2, Table 1). The soil sampling included taking a portion of soil (200 g, depth: ~20 cm) using a plot (1 x 1 m) from the study area, which had an average altitude of 4130 meters above sea level. Sample integrity was maintained with the use of resealable plastic bags and cold storage during transportation (22) to the laboratory for analysis.

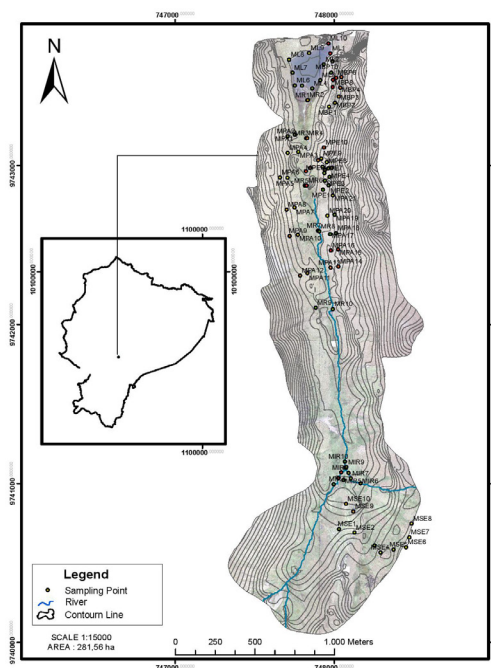


Figure 2: Sampling point distribution of the study area

Region	Surface area (ha)	Area (%)	Plots implemented†
1	205.36	72.94	47
2	62.01	22.03	24
3	5.84	2.07	5
4	7.62	2.71	10

Table 1: Amount of surface area per land use in the recharge zone of Lake Mapahuiña

†All permanent monitoring plots distributed every 50 meters unless stated; Region 1: monitoring plots distributed to account for runoff areas and convergence zones; Region 2: sample plots excluded waterlogged areas; Region 3: number of plots based on the region's area %; Estimation of plot number used a sampling error of 10% (Schlegel et al., 2011)

Soil analysis

Subsamples of surface sediment (10 g) were diluted in peptone water to achieve a stock concentration of 10^{-10} as previously described. Microalgal quantification was determined as cells/mm³ (24) by direct microscopic counts. For the quantification of heterotrophic bacteria, a diluted sample (1 mL, 10^{-6}) was added to a Petrifilm™ aerobic bacteria plate (3M, USA) and incubated for 3 days at 26 °C. Similarly, yeast and mould colonies (1 mL, 10^{-3}) were inoculated on Petrifilm™ yeast and mould type plates, respectively (3M, USA) and incubated for 5 days at room temperature. Microscopic colony enumeration was determined as the number of colony forming units (CFU) per gram of dry soil (CFU/g dry soil) (26).

	Region			
Characteristic†	1	2	3	4
Moisture (%)	15-80	35-90	30-40	30-85
Temperature (°C)	5.1-13.9	7.0-11.1	6.9-10.8	10.0-16.1
pH	4.5-6.4	4.6-6.1	5.1-6.6	5.4-7.1

Table 2: Physical and chemical characteristics of soil samples from the recharge zone of Lake Mapahuiña

†Data collection: relative humidity measured with a soil hygrometer (I.C.T.S.L., Spain); pH measured with a portable pH meter (Hanna Instruments, USA); temperature recorded with a digital ground thermometer (Hanna Instruments, USA).

Statistical Analysis

Data analysis was carried out using the software packages ArcGIS Geostatistical Analyst (Esri, 10.1), which utilizes Inverse Distance Weighing (IDW) for multivariate interpolation, (27) and the statistical software InfoStat. Differences between regions for each variable were evaluated by ANOVA and Tukey's test, with the non-parametric method of Kruskal–Wallis also employed.

Results

Results

To describe the variation of the microbial abundance present in each region of study (Table 3), descriptive statistics for natural log (ln) of CFU/ g dry soil are shown in Table 4 and illustrated graphically in Figures 3-4. The influence of pH on the growth of bacteria was not significant (Spearman $r = -0.41$; $P < 0.001$), even with adequate moisture (Spearman $r = 0.24$; $P = 0.004$) and temperature (Spearman $r = -0.09$; $P = 0.46$). Similarly, the amount of mould was affected by the pH of the soil and showed a weak relationship (Spearman $r = 0.06$; $P = 0.60$), however no correlation with temperature (Spearman $r = -0.15$; $P = 0.24$) or moisture was observed (Spearman $r = -0.59$; $P < 0.001$). There was no significant change in the amount of yeast observed within the soil with changes in pH (Spearman $r = -0.09$; $P = 0.48$); a weak correlation was obtained for both temperature (Spearman $r = -0.13$; $P = 0.27$) and moisture (Spearman $r = -0.39$; $P < 0.001$). Similar to the other microorganisms evaluated, the relationship between microalgae and soil pH was not significant (Spearman $r = 0.31$, $P < 0.001$) while a weak correlation for temperature (Spearman $r = 0.45$; $P < 0.001$), and moisture (Spearman $r = 0.41$; $P < 0.001$) was observed.

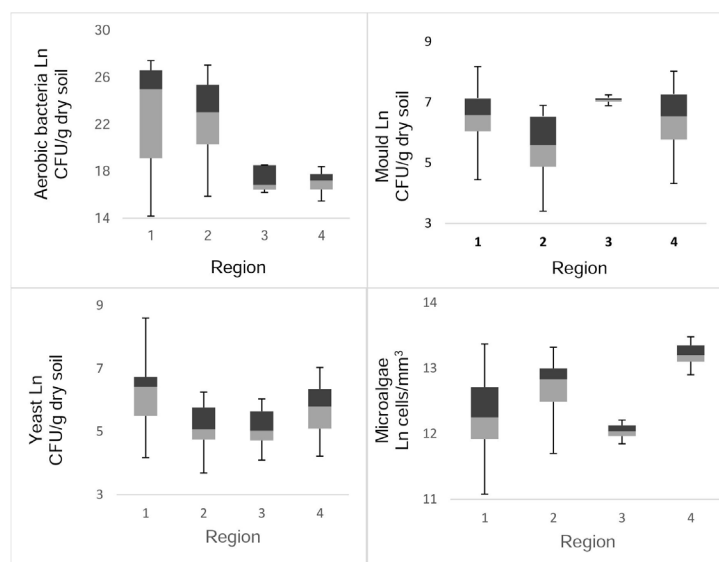


Figure 3: Box plot of data for bacteria, mould, yeast (CFU/g dry soil) and microalgae colonies (cells/mm³) established in the soil regions of the recharge zone of Lake Mapahuíña

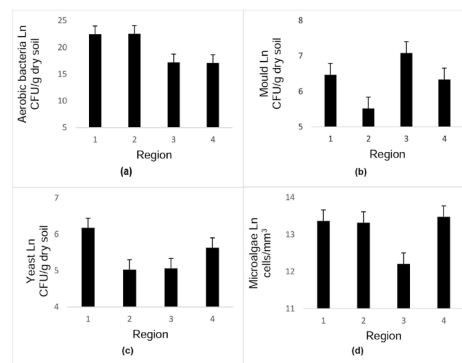


Figure 4: Number of microorganisms per soil region of the recharge zone of Lake Mapahuíña: (a) aerobic bacteria, (b) mould, (c) yeast and (d) microalgae colonies.

Region	Bacteria	Mould	Yeast	Microalgae [†]
1	1.98×10^{11}	9.43×10^2	9.06×10^2	2.49×10^5
2	8.06×10^{10}	3.91×10^2	2.01×10^2	3.56×10^5
3	4.80×10^7	1.20×10^3	6.15×10^2	1.71×10^5
4	3.48×10^7	9.83×10^2	3.86×10^2	5.52×10^5

Table 3: Number of microorganisms determined for each study region[†]

[†]All values in CFU/g of dry soil; [‡]cells/mm³

	Region	ln	N	Min.	Max.	SD	Var
Bacteria	1	22.99	117	14.18	27.41	4.59	20.85
	2	22.75	66	15.87	27.03	2.92	8.42
	3	17.23	9	16.20	18.53	1.00	0.89
	4	17.11	28	15.47	18.39	0.79	0.60
Mould	1	6.53	102	4.44	8.18	0.08	0.71
	2	5.60	56	3.40	6.90	0.12	0.85
	3	7.08	12	6.89	7.24	0.03	0.01
	4	6.43	30	4.32	8.03	0.20	1.12
Yeast	1	6.26	110	4.17	8.61	1.04	1.08
	2	5.08	47	3.69	6.25	0.70	0.48
	3	6.00	24	4.09	7.35	1.03	1.02
	4	5.68	30	4.22	7.04	0.80	0.62
Microalgae	1	12.27	125	11.08	13.37	0.55	0.30
	2	12.71	59	11.70	13.32	0.40	0.16
	3	12.04	15	11.85	12.21	0.11	0.01
	4	13.21	29	12.90	13.48	0.18	0.03

Table 4: Descriptive statistics[†] for microorganisms (Ln) for the four study regions of the recharge zone of Lake Mapahuíña

[†]Data generated by statistical software InfoStat; ln = natural logarithm; N = samples; Min. = minimum value recorded; Max. = maximum value recorded; SD = standard deviation; Var = variance

Discussion

Bacteria

The study was performed in a specific location amid different land uses where distinctive factors are influencing the soil bacterial communities. Throughout

the recharge zone of Lake Mapahuiña the bacterial abundance was highest in Regions 1 (*páramo* vegetation) and 2 (*Azorella aretioides* vegetation), followed by Region 3 (*Pinus radiata* forest) and lastly Region 4 (Contours of Lake Mapahuiña) which produced the smallest bacterial count recorded. In particular, the availability of soil nutrients under the introduced *P. radiata* (Region 3) may be restricted by polyphenolic compounds present in pine conifers while the volcanic soil material present in Region 4 has been shown to reduce the respiration rate of soil bacteria (28). With no significant correlation with the physico-chemical characteristics of the soil and temperature and humidity generating a weak association towards microbial growth, the bacterial diversity and populations may be more dependent on the elemental availability from organic and inorganic matter (29,30) present in the rich taxonomical diversity of the plant communities in Regions 1 and 2. The distribution of bacteria in the study site was not uniform (ANOVA analysis), suggesting a connection to land use, type of vegetation in the regions (31) and several biotic factors including soil organisms and abiotic changes in nutrient supply of parent material (32).

Moulds

The results indicate significant differences (ANOVA test; $p < 0.05$) in the distribution of mould in the soil amid further evidence of the influence of different land uses on their growth as proposed by the study of Lauber (33). As shown in Figure 3, Regions 1 (*páramo* vegetation) and 4 (Contours of Lake Mapahuiña) were determined to have the greatest concentration of mould, followed by Region 2 (*Azorella aretioides* vegetation) and the lowest populations were observed in Region 3 (*Pinus radiata* forest). Here, the presence of pine as previously concluded, can

decrease the fungal biomass in plantations containing this plant species (28).

Fungi more readily adapt to conditions of low soil moisture than bacteria (34), with the ability of these organisms to translocate water and support growth in materials or sites where there is no adequate water supply for growth. Region 1 showed a lower range in soil moisture, compared with Region 4 and 2, which had the following extent of moulds recorded.

The growths of bacteria and fungi in cold climates are affected by the soil temperature range, with optimum temperature growth below 30 °C and high temperatures decreasing their activity (35). Although a weak correlation was observed, there is not a wide range of soil temperature variability, with the highest temperature value recorded at 16 °C in Region 4 (Table 2). Accordingly, continual monitoring of temperature fluctuations in the study area may help to validate any alterations in bacteria and fungi populations, indicative of disturbances in the region.

Yeast

Yeasts were observed at lower abundance than bacteria and are unevenly distributed both in number and species type. In our study, the approximate yeast counts ranged between 5.1 to 6.3 ln CFU/g dry soil (Table 4), which is comparable to the study reported by Mestre (36) and is in good agreement with previous determinations (37). No significant correlation between pH and yeast growth was observed, in accordance with the study of di Menna (38), although Region 1 with a slightly more acidic soil pH was determined to have the highest concentration of yeast compared to the other regions.

Microalgae

As members of the soil microbial community, the importance of microalgae is its ability to contribute to the stability of the soil. A relationship between its concentration and the physicochemical characteristics of the region was not observed (Pearson $r < 0.5$), concurring with previous studies on the dependence of edaphic factors for the propagation of microalgae (29,39). However the IDW analysis (Figure 5) of Region 4 shows the highest distribution of microalgae, corroborating with the existence of favorable conditions for microalgae development in close proximity to aquifers and wetland areas (29,40). Region 3 reported the smallest microalgae concentrations and together with the lowest recorded soil moisture content may be responsible for interrupting microalgae

cellular processes (24). It is postulated that the observed differences in microalgae concentration and distribution is related to the various processes of colonization in *páramo* ecosystems. The difference in variability appears to be due to the study area and type of vegetation present at each region. Nevertheless, it should be emphasized that in the studied area of the recharge zone of Lake Mapahuiña in the Sangay National Park, a considerable amount of microalgae was found, having the potential of unearthing strains of interest for scientific and industrial applications.

The recharge area of the microbasin of the river Zula, which is part of the Andean highlands, contains a significant amount of microorganisms and remains a favorable candidate to provide bacterial strains with possible biotechnological interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank Patricio Santillan and Franklin Cargua for their help in base mapping; to Professor Janice Aldrich-Wright from the University of Western Sydney, for the revision of the manuscript; to the Ecuadorian Ministry of Environment (MAE) for generating the necessary permits to conduct field sampling in the buffer zone of the Sangay National Park and to the residents of the community of Mapahuiña for their assistance with access to the study site.

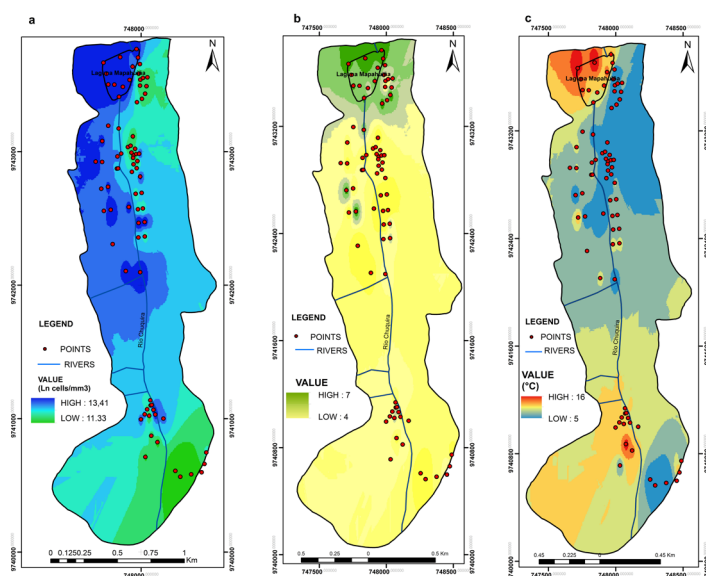


Figure 5: Distribution of microalgae with respect to moisture (a), pH (b) and temperature (c). Graphical analysis generated with ArcGIS Geostatistical Analyst.

Conclusions

The regions containing native *páramo* vegetation and on the banks of Lake Mapahuiña, the greatest wealth of microorganisms was recorded which was in contrast to the plantation of *Pinus radiata* which possibly influences the optimal growth of bacteria, microalgae and moulds. Soil pH in general demonstrates a positive correlation with bacterial growth; however, by having an acidic medium the study site may contain acidobacterial communities which counter the effect. The abundance of microorganisms varies by land use and vegetation type contained in each region. A direct dependence on physicochemical factors such as pH, temperature and humidity was not clear and further analysis of more soil edaphic factors is needed to better understand the microbial behavior. Microalgae were found throughout the study area with a higher amount recorded in the region with a body of water. Moisture at this site remains a characteristic for its optimum growth.

R eferencias

1. Ramsay P, Oxley E. Fire temperatures and postfire plant community dynamics in Ecuadorian grass paramo P. M. Ramsay 1 & E. R. B. Oxley. *Vegetatio*. 1996;(124):129–173.
2. Buytaert W, Wyseure G, De Bièvre B, Deckers J. The effect of land-use changes on the hydrological behaviour of Histic Andosols in south Ecuador. *Hydrol Process*. 2005;19(20):3985–4082.
3. Safford HD. Brazilian Paramos I. An introduction to the physical environment and vegetation of the campos de altitude. *J Biogeogr*. 1999;26(4):693–712.
4. Mena, PV; Hofstede R. Los páramos ecuatorianos. *Bot Econ los Andes Cent*. 2006;91–109.
5. Hofman J, Bezchlebová J, Dusek L, Dolezal L, Holoubek I, Andel P, et al. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. *Environ Int*. 2003;28(8):771–779.
6. Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA), Fao. Manual de Prácticas integradas de manejo y conservación de suelos. Curso Capacit sobre el Manejo y Conserv Suelos IITA. 1997;1–238.
7. Buytaert W, Deckers J, Wyseure G. Description and classification of nonallophanic Andosols in south Ecuadorian alpine grasslands (p??ramo). *Geomorphology*. 2006;73(3-4):207–228.
8. Zúñiga F. Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales. 2004.
9. Ledin M. Accumulation of metals by microorganisms - processes and importance for soil systems. *Earth Science Reviews*. 2000;1–31.
10. Zak DR, Pregitzer KS, King JS, Holmes WE. RC05-Elevated atmospheric CO₂, fine roots and the response of soil microorganisms: a review and hypothesis. *New Phytol*. 2000;147(1):201–223.
11. Mataloni G, Tell G, Wynn-Williams DD. Structure and diversity of soil algal communities from Cierva Point (Antarctic Peninsula). 2000;(15):205–116.
12. Lanza-Espino GD La, Hernandez-Pulido S, Carbajal-Pérez J. Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (bioindicadores). 2000. p. 652.
13. Wynn-Williams DD. Response of pioneer soil microalgal colonists to environmental change in Antarctica. Vol. 31, *Microbial Ecology*. 1996.
14. Johnston HW. The Biological and Economic Importance of Algae. Part 4: the Industrial Culturing of Algae. Vol. 22, *Tuatar: Journal of the Biological Society*. p. 1–164.
15. Hiroaki I. Industrial Production of Microalgal Cell-mass and Secondary Products- Major Industrial Species *Chlorella*. In: Richmond A, editor. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science Ltd; 2004. p. 255–318.
16. Colorado M, Moreno D, Pérez J. Desarrollo , producción y beneficio ambiental de la producción de microalgas . La experiencia en La Guajira , Colombia * Development , Production and Environmental Benefits. 2013;(5).
17. Hauer T, Bohunická M, Mühlsteinová R. Calochaete gen. nov. (Cyanobacteria, Nostocales), a new cyanobacterial type from the “páramo” zone in Costa Rica. *Phytotaxa*. 2013;109(1):36–44.
18. Ramírez M. Revista electrónica _Colombia tiene páramos_. La importancia de los microorganismos y la Edafofauna en los Páramos. Bogotá; 2011 Feb;42–57.
19. Gómez L, Valero N, De Brigard R. Halotolerant / alkalophilic bacteria associated with the cyanobacterium *Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont that promote early growth in *Sorghum bicolor* (L .) Moench Bacterias halotolerantes / alcalofilas asociadas a la cianobacteria *Arthrospira* p. 2012;30(1):111–116.
20. Aguayo M, Pauchard A, Azócar G, Parra O. Cambio del uso del suelo en el centro sur de Chile a fines del siglo XX . Entendiendo la dinámica espacial y temporal del paisaje. *Rev Chil Hist Nat*. 2009;(82):361–435.
21. Ministerio de Ambiente del Ecuador. Sistema de clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental. Subsecretaría de Patrimonio Natural (a). 2012;143.
22. Oosporas D De, Phytophthora D, Montes GR, Fitosanidad I De, Posgraduados C De, Saldaña HL, et al. del Valle de Toluca , México Phytophthora infestans Oospore Distribution in Soil of the Toluca Valley , Mexico. 2011;29:25–38.

23. American Society of Agronomy. Part 2. En A. Wollum, Cultural Methods for Soil Microorganisms. In: Method of Soil Analysis. 1982. p. 785–792.
24. Díaz C, Molina X, Montecino V. Manual para el Monitoreo e Identificación de la Microalga *Bentónica Didymosphenia geminata*. 2011;
25. 3M. Catalogo de producto_ 3M Seguridad de los Alimentos. 2013.
26. Crecchio C, Gelsomino A, Ambrosoli R, Minati JL, Ruggiero P. Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices. *Soil Biol Biochem.* 2004;36(11):1873–1956.
27. Álvarez D, Matiz J, Cárdenas A. Modelos digitales batimétricos generados por métodos de interpolación idw , kriging , Shepard y B-Spline en el archipiélago de Islas del Rosario Bathymetric digital models generated by interpolation methods IDW , Kriging , Shepard and B-Spline in the arch. 2011;3–14.
28. Iovieno P, Alfani A, Bååth E. Soil microbial community structure and biomass as affected by *Pinus pinea* plantation in two Mediterranean areas. *Appl Soil Ecol.* Elsevier B.V.; 2010;45(1):56–63.
29. Kastovská K, Elster J, Stibal M, Santrůcková H. Microbial assemblages in soil microbial succession after glacial retreat in Svalbard (high arctic). *Microb Ecol.* 2005;50(3):396–407.
30. Faoro H, Alves a. C, Souza EM, Rigo LU, Cruz LM, Al-Janabi SM, et al. Influence of soil characteristics on the diversity of bacteria in the southern brazilian atlantic forest. *Appl Environ Microbiol.* 2010;76(14):4744–4753.
31. Garbeva P, van Veen J a, van Elsas JD. Microbial diversity in soil: selection microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. Vol. 42, Annual review of phytopathology. 2004. p. 243–313.
32. Wardle D a. The influence of biotic interactions on soil biodiversity. *Ecol Lett.* 2006;9(7):870–956.
33. Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(15):5111–5131.
34. Jensen KD, Beier C, Michelsen A, Emmett BA. Effects of experimental drought on microbial processes in two temperate heathlands at contrasting water conditions. *Appl Soil Ecol.* 2003;24(2):165–246.
35. Pettersson M, Bååth E. Temperature-dependent changes in the soil bacterial community in limed and unlimed soil. *FEMS Microbiol Ecol.* 2003;45(1):13–21.
36. Mestre MC, Libkind D, Fontenla S. Comparación de condiciones de cultivo para el aislamiento y recuento simultáneo de levaduras de suelos de bosques nativos de *Nothofagus* spp. (FAGACEAE) de la Patagonia Argentina. Vol. 44. 2009.
37. Botha A. The importance and ecology of yeasts in soil. *Soil Biol Biochem.* 2011 Jan;43(1):1–8.
38. di Menna ME. Yeasts in Antarctic soils. Vol. 32, Antonie van Leeuwenhoek. 1966. p. 29–38.
39. Davey MC, Rothery P. Primary colonization by microalgae in relation to spatial variation in edaphic factors on Antarctic fellfield soils. *J Ecol.* 1993;81(2):335–378.
40. Giraldo M. Aislamiento y caracterización de microalgas formadoras de tapetes microbianos asociados a un cultivo hidropónico de plantas halófitas Isolation and Characterization of The Microbial Mats Associated to a Hydroponic Culture of Halophytic Plants.

MORPHOMETRIC ANALYSIS OF MICRO-WATERSHEDS IN ACHUPALLAS PARISH, SANGAY NATIONAL PARK, ECUADOR USING GIS TECHNIQUES

Diego-Armando Damian¹-Carrión, Silvia-Alexandra Salazar-Huaraca¹,
Marco-Vinicio Rodríguez-Llerena¹, Anita-Cecilia Ríos-Rivera¹
and Franklin-Enrique Cargua-Catagna¹

Engineering Faculty¹, National University of Chimborazo, Ecuador

*email: dieardamian@outlook.com

Resumen

El objetivo del trabajo fue determinar los parámetros morfométricos de cuatro microcuencas de los ríos: Zula, Ozogoché, Jubal y Pulpito, en la parroquia Achupallas, Parque Nacional Sangay, Ecuador. Se utilizaron métodos cuantitativos en un Sistema de Información Geográfica permitiendo obtener distintos parámetros morfométricos los mismos que establecen la vulnerabilidad a fenómenos como las inundaciones, erosión entre otros. Los resultados demuestran altos valores de la densidad de drenaje, tiempos de concentración de masas de agua muy reducidos, formas accidentadas de las microcuencas y curvas hipsométricas que determinaron una tendencia a ciclos erosivos inestables. En general las características morfométricas atenúan los efectos de las inundaciones. Únicamente la forma circular de las microcuencas de los ríos Zula y Ozogoché aumenta el riesgo de inundación.

Palabras claves: análisis morfométrico, curva hipsométrica, microcuencas alto andinas, inundaciones, SIG

Abstract

The research objective was to determine the morphometric parameters of four micro watersheds of Zula, Ozogoché, Jubal and Pulpito rivers in the Achupallas parish, Sangay National Park, Ecuador. Quantitative methods were used in a Geographic Information Systems allowing to obtain different morphometric parameters the same as establish the vulnerability to events such as floods, erosion among others. The results show high values of density drain, time of water mass concentration very low, accidental forms of the micro watersheds and hypsometric curves that determined a tendency to unstable erosion cycles. In general morphometric characteristics attenuate the effects of flooding. Only the circular shape of the micro watersheds of Ozogoché and Zula rivers increase the risk of flooding.

Keywords: morphometric analysis, hypsometric curve, micro-watersheds high andean, floods, GIS

Introduction

In Geology, relief and climate are the primary determinants of running water ecosystems functioning at the watershed scale (1, 2). Different workers define watershed differently. Watershed is a natural hydrological entity which allows surface run-off to a defined channel, drain, stream or river at a particular point (3). Also it represents run-off and infiltration areas where rainfall tends to be drained into rivers, lakes or into sea.

The structure model of the earth is strongly influenced by watershed as the preferred directions of surface flows define the erosion mechanisms and sedimentation (4). These processes are the result of the interaction of land use, climate, geology, soil type, topography and vegetation cover (4).

Morphometric analysis provides quantitative description of the watershed geometry to understand initial slope or irregularities in the rock hardness, structural controls, recent diastrophism, geological and geomorphic history of drainage watershed (5). The evaluated parameters are classified as geometric, relief and drainage (6), the same

that have wide application as indicators of vulnerability of the watershed events such as floods, erosion among others (7). Also, the characterization of a watershed is an important step towards sustainable management policies, as it currently does not have studies on the behavior of water flow and morphometric (8).

Geographical Information System (GIS) techniques are widely useful in morphometric analysis of watersheds, as they provide a powerful tool for the manipulation and analysis of spatial information particularly for the feature identification and the extraction of information for better understanding (9). In the present study, a morphometric analysis was carried out in the Achupallas micro-watersheds, Sangay National Park using GIS techniques. The objective was to analyze the influence of morphometric properties in the behavior of both the flow and flood, as these parameters can attenuate or intensify floods (10).

Study area

Achupallas is located in the southwestern part of the Sangay National Park, Chimborazo province, Ecuador (Figure 1). The study area covers an area of 1016 km² and it lies on Nudo de Tarqui that joins the western and eastern mountain ranges, the maximum elevation ranges from 4440 m in the Soroche Mountain to 2000 m in the Guangra zone. A statistical summary of meteorological data related to Achupallas for the period 2012-2014 indicates that the average annual temperature in the northern part of study area is 9.5°C with daily temperatures ranging between 3 - 18°C, the relative humidity is 74% and average annual rainfall is 1050.59 mm, finding diverse ecological levels from paramo to mountain cloud forests. In the southern part of the study area the average annual temperature is 8.3°C with daily temperatures ranging between 0 - 17°C, the relative humidity is 83.6% and average annual rainfall is 1762.51 mm, presenting several montane and high Andean ecosystems continuous, interrupted only by some grasses and few crops.

This area is the most isolated floristically in relation to anthropogenic activities. The climate data were taken for the northern part of the M5140 weather station and for the southern part were taken of the EMA_Jubal weather station. Paramo ecosystems have been developed essentially on pyroclastic deposits resulting from numerous volcanic eruptions, generating andosol soils with morphology and properties that vary according to

the pedogenesis, such as age, chemical composition of the materials and conditions weather (11).

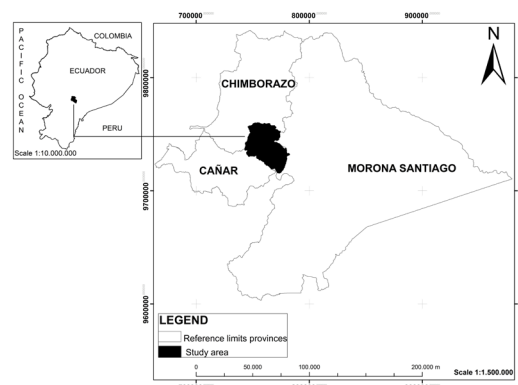


Figure 1. Study area

Methodology

Digital elevation model (DEM) with a resolution of 30 m was used to define the micro-watersheds and delineate the drainage network. The work scale was 1:50,000. The micro-watersheds boundaries were demarcated using the Hydrology tool of ArcGIS Ver. 10.1 software, on the basis of contour value, slope, relief, and drainage flow directions. The morphometric parameters considered for the analysis are summarized in detail in Tables 1 to 3. The input parameters for morphological study such as area, perimeter, elevation, stream length and others, were obtained directly in ArcGIS software. Others morphological parameters were calculated using standard methods with input values (12-15). The drainage network of the micro-watersheds was analyzed per Horton's laws (16) and the stream ordering was made after with Strahler method (5). The drainage network of each micro-watershed was derived from DEM and it was delineated with the Stream Order tool. The hypsometric curve of the micro-watersheds was made and analyzed per Strahler method (17) and with Reclassify tool were determined the areas between the curves.

Parameter	Formula	Reference
Area (A)	Geometric calculation ArcGIS 10.1	-
Perimeter (P)	Geometric calculation ArcGIS 10.1	-
Watershed length (L)	Geometric calculation ArcGIS 10.1	-
Watershed width (W)	$w = \frac{A}{L}$	-
Form factor (Ff)	$Ff = \frac{A}{L^2}$	(Horton, 1932)
Compactness coefficient (Cc)	$Cc = \frac{P}{2\sqrt{\pi * A}}$	(Gravelius, 1914)
Circularity index (Ci)	$Ci = \frac{4 * \pi * A}{P^2}$	(Miller, 1953)
Elongation ratio (Er)	$Er = 1.128 \frac{\sqrt{A}}{L}$	(Schumm, 1956)

Table 1. Geometric parameters.

Parameter	Formula	Reference
Mean height ($\hat{H}$)	$\hat{H} = \frac{\sum(H_i * A_i)}{A}$	-
Basin relief (Br)	$H-h$	-
Hypsometric integral (Hi)	$Hi = \frac{\hat{H} - h}{H - h}$	(Pike and Wilson, 1971)

H : maximum height; h : minimum height.

Table 2. Relief parameters.

Parameter	Formula	Reference
Length of main river (L_r)	Geometric calculation in ArcGIS 10.1	-
Drainage density (Dd)	$Dd = \frac{L_t}{A}$	(Horton, 1945)
Area density (Ad)	$Ad = \frac{N}{A}$	(Horton, 1945)
Sinuosity (S)	$S = \frac{L_r}{L_r'}$	(Schumm, 1963)

L_r' : Longest dimension parallel to the principal drainage line; L_r : total length of the stream segment of all orders; N : total number of stream segments of all orders.

Table 3. Drainage network parameters.

Results and Discussion

The total drainage area of Achupallas was divided into four micro-watersheds for the analysis: Zula (A), Ozogoché (B), Jubal (C) and Pulpito (D) (Figure 2.). The drainage networks of the four micro-watersheds feed three of the most important watersheds in the country. The micro-watershed of Zula River forms part of the upper area of Guayas River watershed and subsequently flows into the Pacific Ocean.

The micro-watershed of Ozogoché River, form part of the upper area of Pastaza River watershed and the micro-watersheds of Jubal and Pulpito Rivers are part of the upper area of Santiago River watershed. The last three micro-watersheds flow into Amazonas River. Jubal, Ozogoché and Pulpito micro-watersheds are within the limits of Sangay National Park, in a transition zone, where the warm and moisture currents of the Amazon converge with cold and dry currents of the Andean mountains, reason why this zone have a high level of rainfall, while Zula micro-watershed is far from this site convergence. It is characterized by the presence of cold and dry currents with low rainfall (18). The results of morphometric study are summarized in

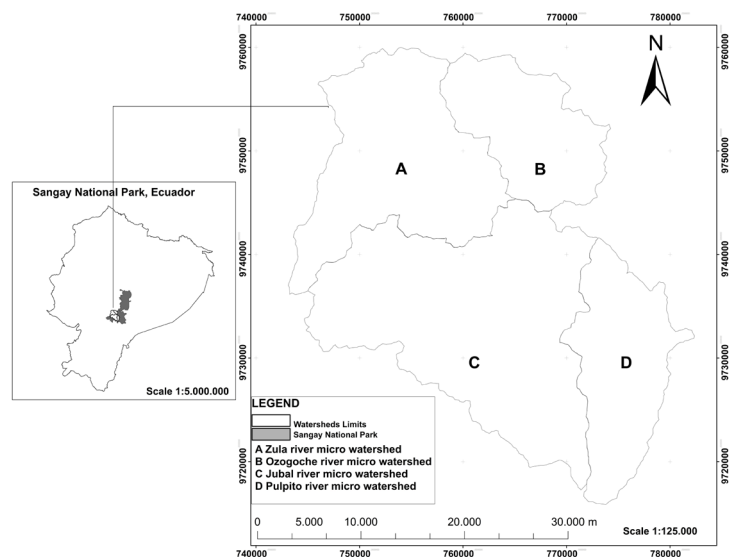


Figure 2. Ozogoché, Zula, Jubal and Pulpito Micro-watersheds inside the Sangay National Park

1 Area

The watershed area is perfectly defined by its contour and it is drained area from the division line of water or divisorium aquarium to the agreed point or mouth. The areas of each micro-watershed are shown in Table 4. Ozogoché is the smaller micro-watershed ($A < 150 \text{ km}^2$) and Jubal is bigger ($A > 400 \text{ km}^2$) than the others.

2 Perimeter

Watershed perimeter is the outer boundary of the watershed that enclosed its area (19). The perimeter of the four micro-watersheds is shown in Table 4. Jubal has the higher value ($P > 115 \text{ km}$) and coincides with the higher value of area, while the perimeter of Ozogoché is less ($P < 60 \text{ km}$) than the other micro-watersheds.

3 Basin length

The basin length corresponds to the maximum length of the watershed measured parallel to the main drainage line (20). The basin length values are shown in Table 4. Jubal and Pulpito are the longer micro-watersheds ($L > 20 \text{ km}$) while Ozogoché has the minimum value of length ($L = 15 \text{ km}$).

4 Form factor

Form factor was proposed by Horton (16) to predict the flow intensity of a watershed of a defined area. The Ff of a drainage watershed is expressed as the ratio between the area of the watershed and the squared of the basin length. The value of form factor must be always less than 0.754 for a perfectly circular watershed (19). In our case Jubal and Pulpito micro-watersheds have values of 0.39 and 0.35 respectively these are lower than 0.754 indicating them to be elongated in shape and suggesting flatter peak flow for longer duration. The Ozogoché and Zula micro-watersheds are similar to the circular shape. Flood flows in elongated watersheds are easier to manage than in the circular watersheds (10).

5 Compactness Coefficient

According to Gravelius (21), compactness coefficient of a watershed is the ratio of perimeter of watershed to circumference of circular area, which equals the area of the watershed. When the index is closets to the unit, the watersheds has a circular shape and therefore is

more compact (10). Cc increases when decreasing compactness. In our case the compactness coefficient of the four micro-watersheds is greater than 1.37 indicating that the micro-watersheds are a somewhat oval, and compactness is not high. Considering that in a circular watershed the flood wave takes more time to reach the mouth and the peak flow is more pronounced (10), Cc in our case does not intensify the flood effects, at least in the mouth.

6 Elongation Ratio

Elongation ratio was defined by Schumm (20) as the ratio between the diameter of a circle of the same area as the watershed and watershed length. The value of elongation ratio generally varies from 0.6 to 1.0 associated with a wide variety of climate and geology (3). These values can be grouped into three categories, namely circular (> 0.9), oval ($0.9 - 0.8$) and elongated (< 0.7) (19). Er values indicate that Ozogoché and Zula have circular shape while Jubal and Pulpito have elongate shape. The high elongated of micro-watersheds does not intensify the river floods (10).

7 Circularity index

The circularity index (5, 13) is expressed as the ratio of the watershed area and the area of a circle with the same perimeter as that of the watershed. Circularity index range from 0.4 to 0.5 indicates watersheds strongly elongated with homogenous geologic materials highly permeable (13). In this case, circularity index values vary between 0.38 to 0.53, indicating that the area is characterized by high relief and the drainage system is structurally controlled.

8 Mean height

The mean height is referred to sea level. This value can be found using the

Parameters	Ozogoche	Zula	Jubal	Pulpito
Area (km ²)	149.97	268.16	429.66	168.46
Perimeter (km)	59.43	93.67	119.48	71.12
Watershed length (km)	15	17.60	33.25	22
Watershed width (km)	10.00	15.24	12.92	7.66
Length of main river (km)	20.60	25	46.8	29.7
Form factor	0.67	0.87	0.39	0.35
Compactness coefficient	1.37	1.61	1.63	1.55
Circularity index	0.53	0.38	0.38	0.42
Elongation Ratio	0.92	1.05	0.70	0.67
Maximum height (km)	4.585	4.431	4.635	4.637
Minimum height (km)	3.521	2.482	1.930	1.930
Mean height (km)	4.119	3.764	3.760	3.575
Watershed Relief (km)	1.064	1.949	2.705	2.707
Coefficient of massiveness	30.64	15.68	6.30	23.19
Hypsometric integral (%)	56	66	68	61
Stream order	V	V	IV	V
Stream lenght (km)	92.94	233.18	161.27	392.91
Length of main river (km)	20.59	24.96	46.81	29.74
Drainage density (km ⁻¹)	0.62	0.87	0.91	0.96
Stream frequency (km ⁻²)	1.66	1.93	2.66	2.67
Sinuosity	2.18	1.89	1.32	1.40

Table 4. Results of morphometric analysis.

hypsometric curve calculating the area under the curve and dividing by the total area of the watershed (Table 2). The $\hat{H}$ of the four micro-watersheds is shown in Table 4. Ozogoche micro-watershed presents the highest value of mean height (4119 m).

9 Basin Relief

Basin relief is the difference in the elevation between the highest point of a watershed and the lowest point on the valley floor (22). In this study, Jubal and Pulpito micro-watersheds present values above to 2700 m of watershed relief. These values confirm the variety of altitudinal levels and the many ecosystems in the area. Since by each 500 m of basin relief is evident a variation of ecological systems presenting important variations in precipitation and temperature (23).

10 Hypsometric curve

Hypsometric analysis, or the relation of horizontal cross-sectional drainage watershed area to elevation, was developed in its modern dimensionless form by Langbein (24). This curve determines how the mass is distributed within a watershed from base to top (13, 20, 25). The shape of the hypsometric curve varies in early geologic stages of development of the drainage watershed, but once having attained an equilibrium, or mature stage, tends to vary little thereafter (15). Generally the curve properties tend to be stable in homogeneous rock masses and to adhere generally to the same curve family for a given geologic and climatic combination (17).

The hypsometric curves of Jubal, Pulpito and Zula micro-watersheds have convex shape (Figure 3) indicating that its territory is composed of a set of geologically young landscapes characterized by mountainous and rugged areas. Also these curves indicate that the rivers are in constant erosion of their channels, with the subsequent transport of solid material. While Ozogoche watershed is formed by less high mountains and vast plains also this micro-watershed is characterized by the presence of wetlands and marshes, being Ozogoche the most important lake system. Its rivers are in a transitory state between the young and equilibrium so the erosion is less.

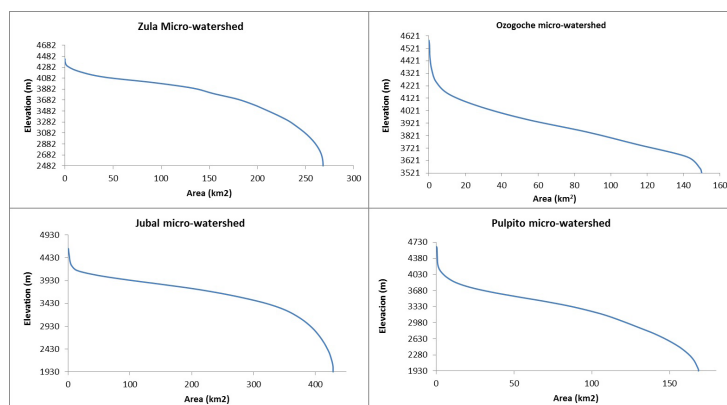


Figure 3. Hypsometric curves.

11 Hypsometric integral

The hypsometric integral is a geomorphological parameter classified under the geologic stages of watershed development (26). The hypsometric integral is also an indication of the cycle of erosion (25, 27). The erosion cycle can be divided into three stages monadnock (old) ($H_i \leq 0.3$), in which the watershed is fully stabilized; equilibrium or mature stage ($0.3 \leq H_i \leq 0.6$); and inequilibrium or young stage ($H_i \geq 0.6$), in which the watershed is highly susceptible to erosion (25, 26, 28). In this case Zula, Jubal and Pulpito micro-watersheds present values of H_i above 60% indicating that these micro-watersheds are in inequilibrium stage and the erosion process is very high. While Ozogoché micro-watershed is finishing the young stage and approaches equilibrium because the H_i is equal to 56%. H_i values confirm the observed in the hypsometric curves.

12 Stream Order

The designation of stream order is based on hierarchic ranking of streams proposed by Strahler (5). The first order streams have no tributaries. The second order streams have only first order streams as tributaries. Similarly, third order streams have first and second order streams as tributaries and so on (3). The stream order dates (Table 5) indicate that Ozogoché, Zula and Jubal are designated as fifth order micro-watersheds having a total of 249, 517 and 1145 stream segments of different orders respectively (Figure 4). These values of stream order indicate that each micro-watershed possess a structured drainage network with perennial rivers that empty quickly the water of the constant rainfall originated in the transition zone between the paramo and Andean forest.

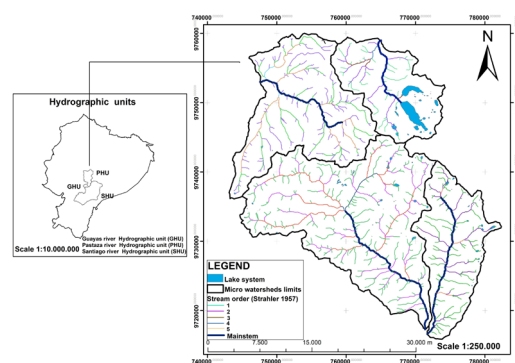


Figure 4. Hydrometric classification according the Strahler (1957) method.

13 Stream Length

Stream length is the total length of streams in a particular order (3). The number of streams of various orders in the micro-watersheds were counted and their lengths measured based on the Horton's law. Generally, the total length of stream segments is maximum in first order streams and decreases as the stream order increases (29). Deviation from its general behavior indicates that the terrain is characterized by high relief and/or moderately steep slopes, underlain by varying lithology and probable uplift across the watershed (30). In the present study only the Zula micro-watershed confirms Horton's second law (1945) showing a linear relationship between the stream order and the stream length (Table 5). The others three micro-watersheds present a small deviation of a straight line in superior orders.

14 Drainage Density

Drainage density is the measure of the total length of the stream segments of all orders per unit area (31). D_d is influenced by numerous factors, among which resistance to erosion of rocks, infiltration capacity of the land and climatic conditions high rank (32). The drainage density of the micro-watersheds varies between 0.62 to 0.96 km/km² indicating a very low drainage density. This suggests that micro-watershed soils are highly permeable and covered by thick

vegetation (33).

15 Stream Frequency

Stream frequency is the total number of stream segments of all orders per unit area (12). For the present study stream frequency is low varying between 1.66 and 2.67. This indicates a relatively low run-off. Table 4 shows close correlation with the drainage density values of four micro-watersheds indicating the increa-

se in streams population with respect to increase in drainage density.

16 Sinuosity

Sinuosity has been defined as the ratio of channel length to down valley distance (34). In general, its value varies from 1 to 4 or more. Rivers with a sinuosity of 1.5 are called sinuous, and above 1.5 are called meandering (35). Values of Ozogoché and Zula micro-watersheds are above to 1.5 indicating that these rivers are meandering and other two are sinuous because the values are less 1.5.

Micro-watersheds	Stream Order						Stream length (km)					
	I	II	III	IV	V	Total	I	II	III	IV	V	Total
Ozogoché	135	49	13	48	4	249	42.6	29.4	7.79	12.4	0.78	92.94
Zula	282	107	93	31	4	517	101	73.2	39	16.5	4.05	233.18
Jubal	555	282	200	24	84	1145	190	99.8	68.7	9.08	25.02	392.91
Pulpito	225	126	21	77	-	449	85.3	47.5	5.69	22.8	-	161.27

Table 5. Stream order and stream length.

Conclusions

Fluvial morphometric analysis using geospatial tools derives quantitative information on the geometry of the watersheds in less time and cost, this information can be correlated with hydrological data for appropriate management of them.

The relief parameters and hypsometric curves of Zula, Jubal and Pulpito micro-watersheds defined mountainous areas with high altitudinal gradient and rivers in continued erosion by natural or anthropogenic effects. Also these micro-watersheds have landscapes geologically young that after long time they will reach equilibrium increasing the inter-Andean plains.

While hypsometric curve of the Ozogoché watershed indicates that its territory is in a transitory state between the young stage and the equilibrium. Its relief is formed by less high mountains and vast plains, also, this micro-watershed is characterized by the presence of wetlands and marshes, being Ozogoché the most important

lake system. The shape parameters also reveal the elongation of the Jubal and Pulpito micro-watersheds and the almost circular shape of the Zula and Ozogoché micro-watersheds. Due to this characteristic, the two first micro-watersheds will have flows flood longer lasting but smaller peak flows compared to Zula and Ozogoché micro-watersheds that present higher risk of flood by the most pronounced peak flows.

The drainage density indicates a wide vegetation cover and hard lithology, also high infiltration rates that feed the underground flow favoring the increase of concentration time and peak flow decrease.

In general we can conclude that the morphometric characteristics not increase rather attenuate the effects and vigor of floods. Only the circular shape of Zula and Ozogoché micro-watersheds can increase the flood risk.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the helpful support and comments of PhD. Benito Mendoza Trujillo. Also we gratefully to the SENESCYT by support the university research.

R eferencias

1. Lotspeich FB, Platts WS. An integrated land-aquatic classification system. *North American Journal of Fisheries Management*. 1982;2:138-187.
2. Frissell CA, Liss WJ, Warren CE, Hurley MD. A hierarchical framework for stream habitat classification: viewing streams in a watershed context. *Environmental Management*. 1986;10:199-214.
3. Chopra R, Dhiman RD, Sharma PK. Morphometric analysis of sub-watersheds in Gurdaspur District, Punjab using remote sensing and GIS techniques. *Journal of the Indian Society of Remote Sensing*. 2005;33(4):531-540.
4. Iroume A. Sediment transport in a mountainous catchment in the Andes of the Ninth Region of Chile. *Bosque (Valdivia)*. 2003;24(1):125-160.
5. Strahler AN. Quantitative geomorphology of drainage basins and channel networks. In: Chow VT (ed), *Handbook of applied hydrology*. New York: McGraw Hill Book Company. 1964.
6. Tonello KC, Dias HCT, Souza ALd, Alvares CA, Ribeiro S, Leite FP. Morfometria da bacia hidrográfica da Cachoeira das Pombas, Guanhões-MG. *Revista Árvore*. 2006;30(5):849-906.
7. Cardoso C, Teixeira HC, Boechat CP, Venâncio S. Caracterização morfométrica da bacia hidrográfica do Rio Debossan, Nova Friburgo, RJ. *Revista Árvore*. 2006;30(2):241-249.
8. Matter MA, Garcia LA, Fontane DG, Bledsoe B. Characterizing hydroclimatic variability in tributaries of the Upper Colorado River Basin. *Journal of Hydrology*. 2009;380(3):260-336.
9. Vijith H, Satheesh R. GIS based morphometric analysis of two major upland sub-watersheds of Meenachil River in Kerala. *Journal of the Indian Society of Remote Sensing*. 2006;34(2):181-186.
10. González AI. Análisis morfométrico de la cuenca y de la red de drenaje del río Zadorra y sus afluentes aplicado a la peligrosidad de crecidas. *Boletín de la Asociación de Geógrafos españoles*. 2004;38:311-340.
11. Cargua FE, Rodríguez MV, Recalde CG, Vinueza LM. Cuantificación del Contenido de Carbono en una Plantación de Pino Insigne (*Pinus radiata*) y en Estrato de Páramo de Ozogoché Bajo, Parque Nacional Sangay, Ecuador. *Información tecnológica*. 2014;25(3):83-934.
12. Horton RE. Drainage basin characteristics. *Transactions American Geophysical Union*. 1932;13:350-411.
13. Miller VC. A quantitative geomorphic study of drainage basin characteristics in the Clinch Mountain area, Virginia and Tennessee. *Journal of geology*. 1953;65(1):30-40.
14. Schumm SA. Sinuosity of alluvial rivers on the Great Plains. *Geological Society of America Bulletin*. 1963;74(9):1089-1189.
15. Strahler AN. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Transactions American Geophysical Union*. 1957;38: 913-933.
16. Horton RE. Erosional development of stream and their drainage basin: hydrophysical approach to qualitative morfology. *Geological Society of America*. 1945;56:275 - 370.
17. Strahler AN. Hypsometric (area altitude) Analysis of Erosional Topography. *Geological Society of America Bulletin*. 1952;63:1117 - 1159.
18. Morrone JJ. La zona de transición Sudamericana. *Acta entomológica chilena*. 2004;28(1):41-50.
19. Pareta K, Pareta U. Quantitative morphometric analysis of a watershed of Yamuna basin, India using ASTER (DEM) data and GIS. *International Journal of Geomantic and Geosciences* 2011;2(1):248-317.
20. Schumm SA. Evolution of drainage systems and slopes in badland, at Perth Amboy, New Jersey. *Geological Society of America Bulletin* 1956;67(597-646).
21. Gravelius H. *Flußkunde. Grundriß der gesamten Gewässerkunde* (Bd 1. 1914).
22. Singh RK, Bhatt CM, Prasad VH. Morphological study of a watersheds using remote sensing

- and GIS techniques. *Hydrology Journal*. 2003;26(1, 2):55-66.
23. Holdridge LR. *Ecología basada en zonas de vida*. Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 1987. p. 216.
 24. Langbein WB. *Topographic characteristics of drainage basins*. 968C. USA: US Government Printing Office; 1947.
 25. Strahler AN. Hypsometric analysis of erosional topography. *The Geological Society of America Bulletin* .1952;63(11):1117-1159.
 26. Singh O, Sarangi A, Sharma MC. Hypsometric integral estimation methods and its relevance on erosion status of North-Western Lesser Himalayan watersheds. *Water Resource Management*. 2008;22(11):1545-1605.
 27. Garg SK. *Geology - the science of the earth*. New Delhi: Khanna Publishers. 1983.
 28. Sarangi A, Bhattacharya AK, Singh A, Singh AK. Use of geographic information system (GIS) in assessing the erosion status of watersheds. *Indian Journal Soil Conserve* 2001;29:190-195.
 29. Mesa LM. Morphometric analysis of a subtropical Andean basin (Tucumán, Argentina). *Environmental Geology*. 2006;50(8):1235-1277.
 30. Singh S, Singh M. Morphometric analysis of Kanhar river basin. *National Geographical Journal of India*. 1997;43(1):31-43.
 31. Javed A, Khanday MY, Ahmed R. Prioritization of sub-watersheds based on morphometric and land use analysis using Remote Sensing and GIS Techniques. *Journal of the Indian Society of Remote Sensing* .2009;37(2):261-335.
 32. Verstappen HT. *Applied geomorphology: geomorphological surveys for environmental development*. Amsterdam: Elsevier Science Ltd.; 1983.

PREVALENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO (HPV) EN ANORMALIDADES EN CÉLULAS EPITELIALES DEL CUELLO UTERINO

Morelva Toro de Méndez¹, Mercedes López de Sánchez¹.

Grupo de investigaciones Citológicas. Cátedra de Citología¹. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.

Contacto: tmorelva@ula.ve

Resumen

Se evaluó la prevalencia y distribución de la infección por HPV en pacientes para pesquisa de cáncer de cuello uterino. Todas las pacientes tenían una citología y una prueba para HPV. Se procesaron 3.883 muestras citológicas: 3.651 (94,0%) eran normales (NILM) y 201 (5,3%) con anomalías (AEC): 90 células escamosas atípicas (2,32%), 77 lesiones intraepiteliales escamosas (1,97%), 5 carcinomas invasores (0,3%) y 29 citologías con células glandulares atípicas (0,75%). La prevalencia general de HPV fue de 32,0%. El 60,5% de AEC fueron HPV positivas. Los HPV-AR fueron detectados en cáncer (60,0%), HSIL (59,3%), LSIL (37,7%). Secuencias HPVX fueron detectadas en 30,0% de ASC-H, 22,9% de ASC-US y 20,0% de LSIL y cáncer. Los HPV más frecuentes fueron: HPV6 (17,3%), HPV31 (16,0%), HPV16 (13,3%) y HPV18 y 56 en la misma proporción (6,7%). El HPV16 fue más frecuente en las ASC-US (23,8%), HPV6 (19,0%) y HPV51 (9,5%). En las LSIL: HPV31 (19,2%), HPV6 (19,2%) y HPV56 (15,4%); en las HSIL: HPV31 (33,3%). El HPV16 se detectó en el 100% de los cánceres cervicales. Es necesario establecer las características epidemiológicas de la infección por HPV en el resto de la población venezolana, antes de implementar estrategias de prevención del cáncer cervical.

Palabras claves: citología de cuello uterino, anomalías celulares, hpv, prevalencia

Abstract

The prevalence and distribution of HPV infection in patients consulting screening for cervical cancer was evaluated. All patients had a smear and HPV test (PCR-RFLP). 3,883 cytological specimens were processed: 3,651 (94.0%) smears were normal (NILM) and 201 (5.3%) had abnormalities (AEC): 90 atypical squamous cells (2.32%), 77 squamous intraepithelial lesions (1.97%), 5 invasive carcinomas (0.3%) and 29 smears with atypical glandular cells (0.75%). The overall prevalence of HPV was 32.0%. 60.5% were HPV positive AEC. The HR-HPV was more frequently detected in cancer (60.0%), HSIL (59.3%), LSIL (37.7%). HPVX sequences were detected in 30.0% of ASC-H, 22.9% of ASC-US and LSIL and 20.0% of cancer. The most common HPV were: HPV6 (17.3%), HPV31 (16.0%), HPV16 (13.3%) and HPV18 and 56 genotypes in the same proportion (6.7%). The HPV16 was more frequent in the ASC-US (23.8%), HPV6 (19.0%) and HPV51 (9.5%). In LSIL, HPV31 (19.2%), HPV6 (19.2%) and HPV56 (15.4%); the HPV31 (33.3%) in HSIL, The HPV16 was detected in 100% of cervical cancers. It is necessary to establish epidemiology characteristics of HPV infection in the rest of the Venezuelan population before implementing strategies to prevent cervical cancer.

Keywords: solar sterilizer by dry process, design, construction, evaluation

Significado de las siglas utilizadas en este artículo:

NILM negativa para lesión intraepitelial escamosa o malignidad.

AEC anormalidades en células epiteliales.

AGC células glandulares atípicas.

ASC-H células con atipias que no excluyen una lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

ASC-US células con atipias de significado indeterminado.

CIN neoplasia intraepitelial cervical.

SIL lesión intraepitelial escamosa.

LSIL lesión intraepitelial escamosa de bajo grado.

HSIL lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

HPV virus papiloma humano.

HPV-BR virus papiloma humano de bajo riesgo oncogénico.

HPV-AR virus papiloma humano de alto riesgo oncogénico.

HPVX virus papiloma humano no identificado.

PCR reacción en cadena de la polimerasa.

RFLP Restriction Fragment Length Polymorphism / Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción.

Introducción

El cáncer de cuello uterino constituye la segunda causa de mortalidad femenina a nivel mundial (1). Se ha informado que en Venezuela, para el año 2008, fueron diagnosticados 3.785 nuevos casos de cáncer cervical y 1.571 muertes por esta neoplasia (2). El cáncer de cuello uterino se encuentra precedido por un espectro de lesiones precursoras denominadas histopatológicamente Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN) y en citología de cuello uterino, Lesión Intraepitelial Escamosa (SIL), según el Sistema Bethesda 2001 (3).

La infección persistente por genotipos

de alto riesgo oncogénico de Virus Papiloma Humano (HPV) es considerada actualmente el principal factor de riesgo necesario para el desarrollo de cáncer invasor de cuello uterino y sus lesiones precursoras (4,5,6,7). Se han identificado alrededor de 170 genotipos específicos de HPV y clasificado, de acuerdo a su asociación con cáncer y lesiones precursoras, en: de bajo riesgo (BR) y de alto riesgo (AR). Entre los HPV-AR se incluyen los genotipos HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 y 82, mientras que entre los HPV-BR están incluidos los genotipos HPV 6, 11, 42, 43, 44 y 55, entre otros (8, 9,10). La prevalencia y distribución de la infección por HPV varía de manera considerable geográficamente, dependiendo de la población estudiada, en particular de sus características inmunológicas, la existencia o no de lesiones en cuello uterino y fundamentalmente del método molecular que se utilice para detectar y genotipificar el ADN viral (11,12,13,14).

Así tenemos que la infección por HPV puede presentarse en el 10,7% de las pacientes con citología normal (4), cerca del 90% de los cánceres de cuello uterino (6), mientras que en pacientes con citología compatible con atipias en células escamosas de significado indeterminado (ASC-US) y lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LSIL) puede alcanzar el 82,9% (15) y en las pacientes con lesión intraepitelial escamosa de alto grado (HSIL) se presenta en más del 50% (4,12,16).

En Venezuela, el cáncer de cuello uterino continúa siendo un problema de salud pública relevante, cuyo diagnóstico inicial se basa en el estudio morfológico de las células que se descaman de este órgano. A pesar de ello, en este país no se han llevado a cabo estudios de población a gran escala, que incluyan casos-controles, para conocer la prevalencia real y el patrón de distribución de los genotipos de HPV más frecuentes.

Las escasas investigaciones que se han realizado incluyen poblaciones muy particulares, como pacientes con citologías anormales (17,18,19,20) o con lesiones en cuello uterino confirmadas por estudio histopatológico (21,22). Según estas investigaciones, la prevalencia general de infección por HPV oscila entre el 53,4% y 98,9% y la prevalencia del HPV-AR es de 82,9% a 98,9% (17, 21,22). El HPV16 es el genotipo viral oncogénico más frecuentemente detectado, alcanzando hasta el 63,3% en las lesiones consistentes con neoplasia intraepitelial cervical grado 3/CIN3 y 68,4% en cáncer invasor (22).

Es imperioso entonces contribuir en el establecimiento de las características epidemiológicas de la población venezolana que permita, de manera efectiva, la planificación eficaz de estrategias de prevención del cáncer de cuello uterino, basado en una metodología de detección y genotipificación de HPV complementaria al estudio citológico.

El objetivo de este estudio fue evaluar la prevalencia de infección por HPV y distribución de los genotipos virales que frecuentemente infectaron a las pacientes merideñas que acudieron a la consulta de pesquisa de cáncer de cuello uterino.

Materiales y Métodos

Material. Durante el período comprendido entre marzo de 2006 y febrero de 2012, se analizaron e informaron las citologías de cuello uterino, según los criterios establecidos por el Sistema Bethesda 2001 (3), provenientes de las pacientes que acudieron a la consulta de rutina de pesquisa de cáncer de cuello uterino y atendidas por el programa Misión Barrio Adentro, pertenecientes a comunidades rurales y del área metropolitana del Estado Mérida, Venezuela. A toda la población estudiada se le realizó simultáneamente, un hisopado cervical para la detección y genotipificación molecular de HPV, mediante la metodología PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism).

Método. Las muestras celulares de cuello uterino para pesquisa de cáncer fueron tomadas de forma convencional, utilizando espátula de Ayre y cepillo endocervical, luego fueron fijadas con cytofix y posteriormente coloreadas con la técnica de Papanicolaou, en el Laboratorio Docente, Asistencial y de Investigación "Licda. Celina Sánchez Rincón" de la Cátedra de Citología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes.

Para la detección y genotipificación del HPV se tomaron muestras de cuello uterino con hisopo, las cuales se procesaron y analizaron en el Laboratorio de Biología y Medicina Experimental (LABIOMEX) de la Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, para extraer el ADN mediante el método clásico de precipitación con fenol-cloroformo con algunas modificaciones. Brevemente, a los hisopados se les añadió solución salina al 0,8 % y se incubó por 2 horas a 37° C y luego

se retiró el hisopo o cepillo cervical. Después de centrifugar a alta velocidad, al paquete celular se le añadió 400µL de tampón de extracción (Tris-HCl 0,2 M pH 8; EDTA 0,025 M; NaCl 0,1 M; y SDS 0,2 %), proteinasa K 0,2 mg (20 mg/mL) y 20µL de SDS 10 %. Se incubó toda la noche a 55° C. Posteriormente se añadió 100µL de Chelex-100 al 5 % y se calentó por 10 minutos a 95° C. A continuación se añadió un volumen de fenol-cloroformo-isoamilalcohol (24:23:1) y se agitó en vórtex, a la fase acuosa separada se le añadieron dos volúmenes de etanol absoluto y 0,2 volúmenes de acetato de amonio 10 M.

Se dejó precipitar el ADN por 48 horas a -20° C, y se procedió a centrifugar para bajar el precipitado. El ADN fue resuspendido en 50µL de tampón TE 10 mM pH 8.

Las muestras de ADN fueron sometidas a una reacción en cadena de la polimerasa (siglas en inglés, PCR) que amplifica un fragmento del gen de la beta-globina, para determinar la calidad del ADN. Para la PCR de detección de HPV, se utilizaron 3 a 5µL de la preparación de ADN. La mezcla de reacción consistió de tampón de PCR 1X, 5,5 mM de MgCl₂, 200µM de dNTP's, 50 picomoles de cada uno de los iniciadores MY09/MY11 y 2,5 U de Taq Polimerasa (Invitrogen). La reacción se sometió a amplificación utilizando un termociclador PTC-100 MJ Researchs con el siguiente programa: 1 min a 94° C, 30 s a 55° C y 1 min a 72° C.

Los amplificados fueron sometidos a análisis de restricción con las enzimas endonucleasas DdeI, RsaI, PstI, y HindfI. La mezcla consistió de: 10µL del amplificado, 2 unidades de enzima, tampón de reacción 1X y agua estéril para un volumen final de 20µL. La mezcla se incubó por 1 hora a 37° C y se inactivó la enzima por calentamiento a 65° C por un minuto. Para visualizar

el patrón de bandas digeridas, 5µL del digerido se sometió a electroforesis en gel de agarosa 2,5 % en tampón TBE 1X. El patrón fue comparado contra patrones de digestión conocidos para su identificación (23). Las secuencias virales no identificadas se señalaron como HPVX.

La detección de dos o más secuencias de ADN HPV detectadas simultáneamente en una misma muestra se consideró una infección múltiple por HPV. Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS versión 17,0 y los resultados se presentan en cuadros y figuras.

Resultados

Se procesaron 3.883 muestras citológicas de cuello uterino. La edad de las pacientes estudiadas estaba comprendida en el rango de 13 a 89 años, con una media de 34,8 años $\pm$ 12,2 años.

Se obtuvieron 3.651 (94,0%) citologías negativas para lesión intraepitelial o malignidad (NILM) y 201(5,3%) casos tenían anomalías en células epiteliales (AEC), distribuidos así: 90 células escamosas atípicas (2,32%): 80 ASC-US (2,06%) y 10 ASC-H (0,25%), 77 lesiones intraepiteliales escamosas (1,97%): 50 LSIL (1,28%) y 27 HSIL (0,69%), 5 cánceres invasores (0,3%) y 29 casos con células glandulares atípicas (0,75%). 31 muestras celulares fueron inadecuadas para estudio citológico (1,0%).

Imágenes citológicas de anomalías celulares se muestran en la Figura 1.

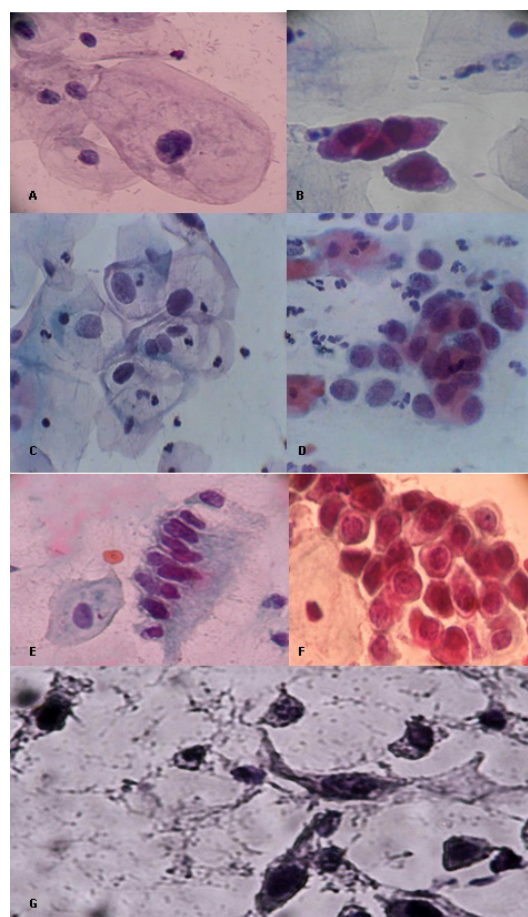


Figura 1

Imágenes citológicas de anomalías en células epiteliales de las muestras de cuello uterino de este estudio. Coloración de Papanicolaou. A. Célula escamosa de tipo intermedio atípica, con aumento del tamaño nuclear y megalocitosis (20X). B. Células metaplásicas inmaduras atípicas, con hiperchromasia nuclear y megalocariosis discreta (40X). C. Lesión Intraepitelial Escamosa de bajo grado (LSIL/HPV). Coilocitos asociados a infección por HPV (20X). D. Lesión Intraepitelial Escamosa de alto grado (HSIL). Células metaplásicas inmaduras discarióticas (40X). E. Células endocervicales en empalizada atípicas, con anisocariosis y pleomorfismo nuclear (20X). F. Células endocervicales en panal atípicas, destacando la anisocariosis discreta y halos perinucleares rígidos, probablemente asociados a infección por HPV (40X). G. Células pleomórficas con características de malignidad, sobre fondo diatésico, compatibles con carcinoma invasor de cuello uterino (40X).

La prueba molecular para detección y genotipificación de HPV se realizó a las 3.883 muestras cervicales. De estas, fueron excluidas 113 porque no tenían resultado de la prueba molecular y 137 porque fueron inadecuadas para ese estudio.

La muestra final fue de 3.633 casos con citología y resultado de la prueba de HPV. Del total de muestras analizadas (3.633) resultaron positivas para la prueba de HPV 1.160 (32,0%). En el 10,4% se detectó HPV-AR. Una secuencia viral no identificada (HPVX) estaba presente en el 13,8% de las muestras. De los 201 casos con anomalías en células epiteliales, 185 tenían disponible los resultados de la prueba de HPV, de los cuales 112 fueron positivos (60,5%): 37 ASC-US, 4

ASC-H, 36 LSIL, 23 HSIL, 4 cánceres y 8 AGC. Los HPV-AR fueron más frecuentemente detectados en cáncer (60,0%), HSIL (59,3%), LSIL (37,7%). En los casos de atipias también fueron detectados: ASC-US (17,1%) y AGC (10,7%). Secuencias de HPVX fueron detectadas en 30,0% de ASC-H, 22,9% de ASC-US, en el 20,0% de LSIL y cáncer; en el 18,6% HSIL y en el 3,7% de las AGC. El 20,0% de las LSIL tenían positividad para un tipo de HPV-BR seguidas del 14,3% de las AGC y ASC-US (12,9%). La infección múltiple por HPV fue poco frecuente: un caso de ASC-H y uno de LSIL. Estos resultados se presentan en el Tabla I. La distribución porcentual de los genotipos específicos de HPV hallados en este estudio se presenta en la Figura 2. En orden decreciente, los HPV más frecuentes fueron: HPV6 (17,3%), HPV31 (16,0%), HPV16 (13,3%) y los HPV18 y HPV56, ambos en la misma proporción (6,7%). En la Tabla II se aprecia la distribución de los genotipos específicos de HPV, observándose que ésta varía entre

las diferentes anormalidades en células epiteliales. En los casos categorizados como ASC-US los tres genotipos virales de mayor prevalencia fueron el HPV16 (23,8%), HPV6 (19,0%), HPV51 (9,5%), en las LSIL: HPV31 (19,2%), HPV6 (19,2%), HPV56 (15,4%) y en las HSIL: HPV31 (33,3%) y en la misma proporción: HPV16, HPV18 y HPV58 (11,1%). El HPV16 se detectó en todos los casos de cáncer invasor (100%). Los genotipos más comunes en las citologías con AGC fueron el HPV 6 (42,9%) y HPV 52 (28,6%).

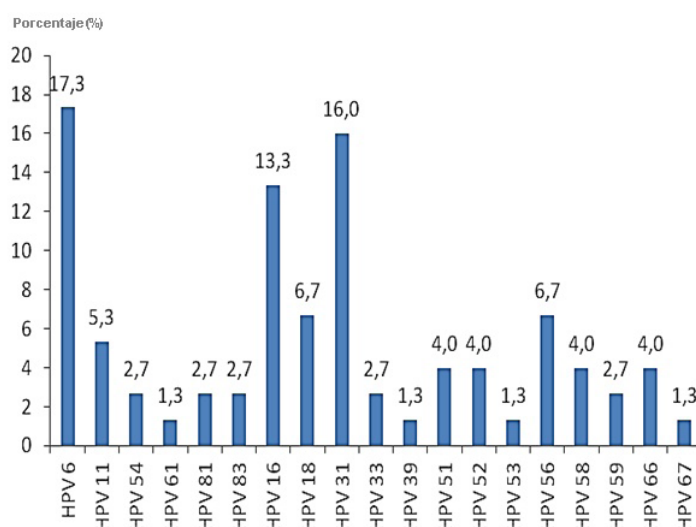


Figura 2. Distribución porcentual de los genotipos específicos de HPV en los casos con anormalidades en células epiteliales.

Anormalidades en células epiteliales.						
Prueba HPV	ASC-US (%)	ASC-H (%)	LSIL (%)	HSIL (%)	Ca (%)	AGC (%)
Negativa	33 (47,1)	6 (60,0)	9 (20,0)	4 (14,8)	1 (20,0)	20 (71,4)
Positiva	37 (52,9)	4 (40,0)	36 (80,0)	23 (85,2)	4 (80,0)	8 (28,6)
HPV BR	9 (12,9)	0	9 (20,0)	2 (7,4)	0	4 (14,3)
HPV AR	12 (17,1)	0	17 (37,7)	16 (59,3)	3 (60,0)	3 (10,7)
HPV X	16 (22,9)	3 (30,0)	9 (20,0)	5 (18,6)	1 (20,0)	1 (3,7)
Infección múltiple	0	1 (10,0)	1 (2,3)	0	0	0

TABLA I. Infección por HPV en citologías con anormalidades en células epiteliales.

ANORMALIDADES EN CÉLULAS EPITELIALES					
Genotipos HPV	ASC-US (%)	LSIL(%)	HSIL(%)	Ca(%)	AGC(%)
HPV 6	4(19,0)	5(19,2)	1(5,6)	0	3(42,9)
HPV 11	1(4,8)	2(7,7)	1(5,6)	0	
HPV 54	1(4,8)	1(3,8)	0	0	
HPV 61	1(4,8)	0	0	0	
HPV 81	1(4,8)	1(3,8)	0	0	
HPV 83	1(4,8)	0	0	0	1(14,3)
HPV 16	5(23,8)	0	2(11,1)	3(100)	
HPV 18	2(9,5)	1(3,8)	2(11,1)	0	
HPV 31	1(4,8)	5(19,2)	6(33,3)	0	
HPV 33	0	1(3,8)	1(5,6)	0	
HPV 39	1(4,8)	0	0	0	
HPV 51	2(9,5)	0	1(5,6)	0	
HPV 52	0	1(3,8)	0	0	2(28,6)
HPV 53	0	1(3,8)	0	0	
HPV 56	0	4(15,4)	1(5,6)	0	
HPV 58	0	1(3,8)	2(11,1)	0	
HPV 59	1(4,8)	0	1(5,6)	0	
HPV 66	0	3(11,5)	0	0	
HPV 67	0	0	0	0	1(14,3)

TABLA II: Prevalencia de los genotipos específicos de HPV en las anormalidades en células epiteliales.

Discusión

La genotipificación de HPV se ha ido incorporando a la pesquisa de rutina de cáncer de cuello uterino y actualmente este resultado es considerado en los diferentes algoritmos de manejo clínico durante las consultas ginecológicas (24). Así mismo, el conocimiento del patrón de infección por HPV es de interés para el diseño de estrategias de prevención como vacunas específicas, de mayor eficacia para las diferentes poblaciones, de acuerdo con sus características epidemiológicas (25).

La determinación de la prevalencia de infección por HPV es útil en la clasificación de las pacientes que presentan resultados citológicos con AEC, especialmente en el triage de ASC-US/LSIL y que requieren tratamiento inmediato y vigilancia periódica, para evaluar su verdadero riesgo de desarrollar una lesión cervical clínicamente significativa. El riesgo de progresión a cáncer de cuello uterino varía dependiendo del genotipo de HPV presente. Los HPV-AR como el HPV16 y HPV18, entre otros de alto riesgo oncogénico, son los más asociados con un riesgo elevado de desarrollar lesiones de alto grado, como CIN2/3-carcinoma in situ (4,6,8,16,25,26). La prevalencia y distribución de los genotipos de HPV en las distintas investigaciones varía considerablemente en las diferentes regiones del mundo y nacionales, señalándose básicamente que estas variables dependen de aspectos que se continúan repitiendo, cuando se consulta la literatura relacionada, como: características epidemiológicas de la población que se estudia incluyendo el estado inmunológico y de los diferentes métodos moleculares utilizados para la detección y genotipificación del ADN HPV.

La prevalencia general de HPV en este

estudio fue de 32,0%, la cual es semejante al 34,2% encontrada en el estudio de 60.775 pacientes realizado en Korea por Lee y col en 2012 (27), quienes utilizaron un procedimiento de tipificación viral similar al de este estudio y quienes además hallaron 16% de citologías con anomalías en células epiteliales.

También Argiry y col 2013 (28) obtuvieron una prevalencia de HPV (33,1%) semejante a la del presente estudio; su investigación incluyó 3.170 pacientes griegas con citologías normales y anormales, aunque la metodología utilizada fue ADN HPV-Chip.

En Venezuela, la presencia de HPV en pacientes con citologías o biopsias anormales varía entre el 53,4% y 98,9% (17,19,21,22). Las variaciones en la prevalencia podrían deberse a la inconstancia en el número y tipo de lesiones incluidas en cada estudio, al número y tipo de interpretaciones citológicas o histopatológicas y a la metodología utilizada en estos, según explican Lee y col 2012 (27), Dunsun y col 2013 (29) y Zhou y col 2014 (30). En este estudio, se observó que el 60,5% de las citologías categorizadas como AEC eran positivas para la prueba de HPV, similar a lo informado por de Jonge y col 2013 (31) y difiriendo ligeramente de otros estudios desarrollados en Venezuela (17,21,22), coincidiendo con otras investigaciones en que a medida que aumentó la severidad de la lesión, se incrementó también la prevalencia de HPV (11, 28,32).

La distribución de los genotipos específicos de HPV también muestra variación geográficamente (33,34). Esta variación posiblemente se debe al tipo de lesiones cervicales estudiadas, a la heterogeneidad en las características epidemiológicas de las poblaciones y a la de los protocolos de detección y genotipificación de HPV utilizados en los diferentes estudios (27). El HPV 16 es el genotipo de HPV oncogénico más frecuentemente detectado en pacientes con cáncer y lesiones premalignas de cuello uterino, tanto por citología como por biopsia (7,14, 21,22,35), así como en pacientes con citologías normales (33).

En las pacientes con cáncer cervical del presente estudio, el HPV16 fue el único genotipo viral detectado (100%). Esto indica que aun cuando hay marcadas diferencias en la prevalencia de HPV en las diferentes categorías citológicas (ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL) entre regiones y países, el HPV16 continúa siendo el principalmente asociado al cáncer de cuello uterino (31).

Contrario a lo reflejado en la mayoría de los estudios, tanto a nivel mundial como en Venezuela, en este estudio, el HPV31 fue detectado con mayor frecuencia que el HPV16, sobre todo en los casos de lesiones premalignas (LSIL y HSIL). El HPV31 también fue hallado en otros estudios que incluyeron cáncer y CIN2/3 del cuello uterino (4,13,16,21,22,25,31,36).

Según Halfon y col 2013 (16), el 52% de las pacientes con HPV31 podría tener mayor riesgo a desarrollar una lesión intraepitelial cervical grado 2 o más (CIN2+) en comparación con el 58% si fuese HPV16 ó 28% si fuese HPV18. La inclusión de genotipos de HPV diferentes a los HPV16 y 18, como los HPV31, 33, 45, 52, 56 y 58, en vacunas de segunda generación, actualmente en desarrollo (37), podrían prevenir casi el 90% de los cánceres invasores de cuello uterino a nivel mundial. También los genotipos HPV51, 52, 56 y 58 fueron frecuentes en algunas de las categorías citológicas de este estudio, coincidiendo con otros estudios venezolanos (21,22). El HPV52 ha sido detectado con frecuencia en casos de cáncer y CIN2/3 en pacientes venezolanas (21,22).

Por ello, debe investigarse la participación de estos otros genotipos oncogénicos de HPV en la carcinogénesis del cuello uterino de las pacientes de este medio, para determinar si es necesaria su inclusión o no en las futuras vacunas polivalentes de segunda generación (25,27,29). Así como si son de interés local para el manejo clínico conveniente de las pacientes y en el diseño de metodologías de detección de HPV.

En este estudio, de manera llamativa, se obtuvo un 18,9% de secuencias virales que no pudieron ser identificadas (HPVX), porcentaje mayor al informado por Aedo y col 2007, el cual fue igual

a 10% (38), quienes usaron el mismo método de genotipificación que en este estudio. Se deben realizar investigaciones futuras con técnicas moleculares como la secuenciación, que permitan identificar estos genotipos desconocidos de HPV a fin de establecer el verdadero patrón de infección por HPV en esta región. El 28,6% de las atipias en células glandulares (AGC) de cuello uterino incluidas en este estudio fue positivos para HPV.

El rango de infección por HPV en pacientes con AGC oscila entre 25,0% y 38,0% (39,40,41). La presencia de AGC es un hallazgo citológico infrecuente, pero su importancia clínica radica en que un elevado porcentaje de pacientes HPV positivas con este tipo de resultado citológico está asociado a un mayor riesgo de adenocarcinoma endocervical (40). Además, un porcentaje significativo de pacientes con AGC podría presentar una biopsia positiva para HSIL o cáncer invasor, así como neoplasia extrauterina (42,43,44). Por ello, en las recomendaciones para el manejo clínico de las pacientes con AGC se incluye específicamente la detección de HPV-AR, para identificar aquellas con un riesgo elevado de padecer una lesión significativa (24,45,46).

En el estudio de Namugenyi y col 2013 (40), quienes estudiaron 53 casos de AGC y 338 controles encontraron que el 13,2% era positivo para HPV-BR y el 20,8% para HPV-AR, mientras que en este estudio correspondió a 14,3% (HPV6 y HPV83) y 10,7%, (HPV16 y HPV52), respectivamente. En otro estudio que incluyó aproximadamente 10.000 citologías en base líquida, obtenidas de pacientes de un programa de pesquisa de cáncer cervical en Bélgica, hallaron positividad para HPV-AR en el 32,0% de las citologías cervicales con AGC (36). Aunque el número de casos con AGC de este estudio era bajo, se recomienda realizar estudios en este tipo de pacientes para establecer sus características y riesgos de desarrollar neoplasia. En este estudio, el HPV6 fue el genotipo de HPV-BR más frecuente (17,3%). Los HPV de bajo riesgo oncogénico son la causa más frecuente de una elevada proporción de verrugas genitales, cuyas citologías cervicales muestran compatibilidad con ASC-US/LSIL (14,47).

Los hallazgos de este estudio deben interpretarse con mesura debido a las siguientes limitaciones: en primer lugar, se estudió sólo una parte de la población, no siendo representativa de toda la región merideña, por lo

que sería necesario ampliar la cobertura, de manera que se pueda disponer de datos más precisos, tanto a nivel regional como nacional. En segundo lugar, no se dispuso de suficientes datos de seguimiento de la población estudiada para complementar la información. Y finalmente, la comparación de prevalencia y distribución de los genotipos de HPV en esta región con la global se vio afectada debido a que la metodología utilizada en este estudio fue diferente a la que se utiliza frecuentemente en las investigaciones, tanto nacionales como internacionales.

Además, hubo una alta proporción de HPVX, no identificados, impidiendo el establecimiento más exacto de la prevalencia de genotipos específicos de HPV. En base a estas limitaciones, recomendamos ampliar la población estudiada, identificar el genotipo viral específico en los casos positivos para HPVX y determinar la prevalencia general de esta infección incluyendo casos y controles. De ser posible, realizar seguimiento a los casos con ACE por biopsia, que permitan correlacionar la oncogenicidad del genotipo viral detectado con la presencia de lesiones en cuello uterino clínicamente significativas. Los hallazgos de este

estudio permiten concluir que en esta región, la infección por HPV oncogénico es elevada en pacientes con anormalidades en células epiteliales del cuello uterino. El HPV31 es un genotipo oncogénico bastante frecuente en pacientes con citologías anormales, además de los genotipos HPV16, 18 y 56, por lo que antes de implementar cualquier estrategia de prevención del cáncer de cuello uterino, como un programa de vacunación nacional, es necesario establecer las características epidemiológicas de la infección por HPV en la población venezolana, utilizando protocolos moleculares estandarizados para su detección y genotipificación, para caracterizar con mayor exactitud a la población y determinar el impacto de las vacunas existentes y de segunda generación, en la población venezolana.

Agradecimientos

Las autoras manifiestan su agradecimiento al FONACIT por el financiamiento parcial de este proyecto: FONACIT N° 2005000180 y al personal Asistencial y Técnico de la Cátedra de Citología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis-ULA, y muy especialmente a los profesores Militza Quintero Vega y Jhon Cruz Gómez de LABIOMEX, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, quienes se encargaron de la detección y genotipificación de HPV en las muestras cervicales incluidas en este estudio.

Conflicto de intereses

Los autores declaran la inexistencia de conflictos de intereses.

R eferencias

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. 2008. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN. *Int J Cancer*.127:2893-2917.
2. Capote Negrín L. 2013. Perfil epidemiológico y control del cáncer en Venezuela. *Gac Med Caracas*.121:43-52.
3. Solomon D, Nayar R. 2004. The Bethesda System for reporting cervical cytology. Springer. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. Springer. ISBN 978-0-387-40358-8.
4. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R, et al. 2007. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer*. 121:621-632.
5. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. 2010. Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 1048-1056.
6. Alemany L, Pérez C, Tous S, Llombart-Bosch A, Lloveras B, Lerma E, et al. 2011. Spanish study group RIS HPV TT. Human papillomavirus genotype distribution in cervical cancer cases in

Spain. Implications for prevention. *Gynecol Oncol.* 124:512-517.

7. Alemany L, de Sanjosé S, Tous S, Quint W, Vallejos C, Shin HR, et al. 2014. RIS HPV TT Study Group. Time trends of human papillomavirus types in invasive cervical cancer, from 1940 to 2007. *Int J Cancer.* 135:88-95.

8. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. 2003. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 348:518-527.

9. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. 2004. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 324:17-27.

10. de Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. 2013. *Virology.* 445:2-10.

11. Nobre RJ, Cruz E, Real O, de Almeida LP, Martins TC. 2010. Characterization of common and rare human papillomaviruses in Portuguese women by the polymerase chain reaction, restriction fragment length polymorphism and sequencing. *J Med Virol.* 82:1024-1032.

12. Tricco AC, Ng CH, Gilca V, Anonychuk A, Pham B, Berliner S. 2011. Canadian oncogenic human papillomavirus cervical infection prevalence: systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 11:235-246.

13. Martín P, Kilany L, García D, López-García AM, Martín-Azaña MJ, Abaira V, et al. 2011. Human papillomavirus genotype distribution in Madrid and correlation with cytological data. *BMC Infect Dis.* 11:316-320.

14. Bzhalava D, Guan P, Franceschi S, Dillner J, Clifford G. 2013. A systematic review of the prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus types. *Virology.* 445:224-231.

15. Human papillomavirus testing for triage of women with cytologic evidence of low-grade squamous intraepithelial lesions: baseline data from a randomized trial. The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study (ALTS) Group. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(5):397-402.

16. Halfon P, Lindemann ML, Raimondo A, Ravet S, Camus C, Khiri H, et al. 2013. HPV genotype distribution according to severity of cervical neoplasia using the Digene HPV genotyping LQ test. *Arch Virol.* 158:1143-1149.

17. Correnti M, Cavazza ME, Herrera O, Rodríguez A. 2010. Presence of human papillomavirus infection determined by hybrid capture assay in cervical lesions in a Venezuelan population. *Invest Clin.* 51: 27-35.

18. Somogyi L, Malpica Gracián CC, Alvarado B, García M. 2010. Virus del papiloma humano (VPH) detección y tipificación en la consulta privada. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 70:160-166.

19. López M, Guillén M, Quintero M, Cruz J, Puig J, Toro de Méndez M. 2012. Infección por virus papiloma humano en pacientes con células escamosas atípicas de un programa de pesquisa de cáncer cervical. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 72: 19-27.

20. Rivas E, Verlezza S, Flores M. Distribución genotipo-específico del virus papiloma humano entre hombres y mujeres de Caracas, Venezuela. 2012. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 72:171-176.

21. Correnti M, Medina F, Cavazza ME, Rennola A, Avila M, Fernández A. 2011. Human papillomavirus (HPV) type distribution in cervical carcinoma, low-grade, and high-grade squamous intraepithelial lesions in Venezuelan women. *Gynecol Oncol.* 121(3):527-531.

22. Sánchez-Lander J, Cortiñas P, Loureiro CL, Pujol FH, Medina F, Capote-Negrín L, et al. 2012. Human papillomavirus in invasive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia 2 and 3 in Venezuela: a cross-sectional study. *Cancer Epidemiol.* 36: e284-e287.

23. Bernard HU, Chan S, Manos M, Ong CH, Villa L, Delius H, et al. 1994. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis.* 170:1077-1085.

24. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. 2012. ACS-ASCCP-ASCP Cervical Cancer Guideline Committee. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology. screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin.* 62:147-172.
25. Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. 2011. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 6:e25493.
26. Gage JC, Schiffman M, Solomon D, Wheeler CM, Gravitt PE, Castle PE, et al. 2013. Risk of precancer determined by HPV genotype combinations in women with minor cytologic abnormalities. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 22:1095-1101.
27. Lee EH, Um TH, Chi HS, Hong YJ, Cha YJ. 2012. Prevalence and distribution of human papillomavirus infection in Korean women as determined by restriction fragment mass polymorphism assay. *J Korean Med Sci.* 27:1091-1097.
28. Argyri E, Papaspyridakos S, Tsimplaki E, Michala L, Myriokefalitaki E, Papassideri I, et al. 2013. A cross sectional study of HPV type prevalence according to age and cytology. *BMC Infect Dis.* 13:53. doi:10.1186/1471-2334-13-53.
29. Dursun P, Ayhan A, Mutlu L, Çağlar M, Haberal A, Güngör T, et al. 2013. HPV types in Turkey: multicenter hospital based evaluation of 6388 patients in Turkish gynecologic oncology group centers. *Turk Patoloji Derg.* 29:210-216.
30. Zhou H, Mody DR, Schwartz MR, Coffey DM, Smith D, Zwain OA, et al. 2014. Genotype-specific prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in underserved Latino women with abnormal Papanicolaou tests. *J Am Soc Cytopathol* 3:42-48.
31. de Jonge M, Busecke G, Heinecke A, Bettendorf O. 2013. Human papillomavirus genotype distribution in cytologically screened women from northwest Germany. *Acta Cytol.* 57(6):591-598.
32. Vidal A, Murphy S, Hernandez B, Vasquez B, Bartlett J, Onoko O, et al. 2011. Distribution of HPV genotypes in cervical intraepithelial lesions and cervical cancer in Tanzanian women. *Infectious Agents and Cancer.* 6:20.
33. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. 2005. IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet.* 366:991-998.
34. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. 2007. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 7:453-459.
35. Simonella LM, Lewis H, Smith M, Neal H, Bromhead C, Canfell K. 2013. Type-specific oncogenic human papillomavirus infection in high grade cervical disease in New Zealand. *BMC Infect Dis.* 13:114-123.
36. Arbyn M, Benoy I, Simoens C, Bogers J, Beutels P, Depuydt C. 2009. Prevaccination distribution of human papillomavirus types in women attending at cervical cancer screening in Belgium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 18:321-230.
37. Serrano B, Alemany L, Tous S, Bruni L, Clifford GM, Weiss T, et al. 2012. Potential impact of a nine-valent vaccine in human papillomavirus related cervical disease. *Infect Agent Cancer.* 7:38-48.
38. Aedo S, Melo A, García P, Guzmán P, Capurro I, Roa JC. 2007. Detección y tipificación de virus papiloma humano en lesiones preneoplásicas del cuello uterino mediante PCR-RFLP. *Rev Méd Chile.* 135:167-173.
39. Derchain SF, Rabelo-Santos SH, Sarian LO, Zeferino LC, de Oliveira Zambeli ER, do Amaral Westin MC, et al. Human papillomavirus DNA detection and histological findings in women referred for atypical glandular cells or adenocarcinoma in situ in their Pap smears. *Gynecol*

Oncol. 95:618-623.

40. Katki HA, Schiffman M, Castle PE, Fetterman B, Poitras NE, Lorey T, et al. 2013. Five-year risks of CIN 3+ and cervical cancer among women with HPV-positive and HPV-negative high-grade Pap results. *J Low Genit Tract Dis.* 17:S50-S55.

41. Namugenyi SB, Balsan MJ, Glick SN, Jordan JA. 2013. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in cytology specimens containing atypical glandular cells: a case-control study. *J Clin Virol.* 58:432-436.

42. Kim SS, Suh DS, Kim KH, Yoon MS, Choi KU. 2013. Clinicopathological significance of atypical glandular cells on Pap smear. *Obstet Gynecol Sci.* 56:76-83.

43. Türkmen IÇ, Başsüllü N, Korkmaz P, Güneç B, Baykal CM, Güdücü N, et al. 2013. Patients with epithelial cell abnormality in PAP smears: correlation of results with follow-up smears and cervical biopsies. *Turk Patoloji Derg.* 29(3):179-184.

44. Shoji T, Takatori E, Takeuchi S, Yoshizaki A, Uesugi N, Sugai T, et al. 2014. Clinical significance of atypical glandular cells in the Bethesda system 2001: a comparison with the histopathological diagnosis of surgically resected specimens. *Cancer Invest.* 32:105-109.

45. Zeferino LC, Rabelo-Santos SH, Villa LL, Sarian LO, Costa MC, do Amaral Westin MC, et al. 2011. Value of HPV-DNA test in women with cytological diagnosis of atypical glandular cells (AGC). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 159:160-164.

46. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, et al. 2013. 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *Obstet Gynecol.* 121:829-846.

47. Petry KU, Luyten A, Justus A, Ifner A, Strehlke S, Schulze-Rath R, et al. 2012. Prevalence of low-risk HPV types and genital warts in women born 1988/89 or 1983/84 -results of WOLVES, a population-based epidemiological study in Wolfsburg, Germany. *BMC Infect Dis.* 12:367-375.

ESTUDIO DE COMPLEJOS INTERMOLECULARES EN FASE GASEOSA A PARTIR DE ESPECTROS ROTACIONALES DE MICROONDAS CON INYECCIÓN PULSADA

Robert Cazar

Facultad de Ciencias¹, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador, e-mail: rcazar@yahoo.com

R esumen

La espectroscopia de microondas convencional no provee una apropiada descripción de los complejos intermoleculares porque no puede producir una cantidad representativa de tales sistemas. El uso de inyección pulsada supera esta limitación, ya que ella genera un haz supersónico de gas rico en complejos moleculares que pueden ser aislados y detectados. Esto permite obtener espectros de microondas de alta calidad. Las constantes espectroscópicas derivadas de estos espectros proporcionan una descripción exacta de la simetría, geometría y fuerza del enlace intermolecular de tales complejos. En este trabajo se analizaron las constantes espectroscópicas de los dímeros $\text{NH}_3 - \text{HX}$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) en fase gaseosa. Para el $\text{NH}_3 - \text{HCl}$, las constantes rotacionales A_0 , B_0 y C_0 fueron 188.76, 4.24 y 4.24 GHz, respectivamente. Estos valores indican que este dímero es un rotor simétrico con simetría C_{3v} . La constante de cuadrupolo nuclear, $\chi(35\text{Cl})$, y la constante de estiramiento inter-nuclear, $k\sigma$, fueron -47.61 MHz, and 17.6 Nm^{-1} , respectivamente. Estos valores son próximos a los de un modelo enlazado por un puente de hidrógeno. Se concluye que, en fase gaseosa, el dímero $\text{NH}_3 - \text{HCl}$ se comporta como un complejo débilmente enlazado. Los dímeros $\text{NH}_3 - \text{HBr}$ y $\text{NH}_3 - \text{HI}$ dieron resultados similares.

Palabras claves: espectroscopia de microondas, complejos intermoleculares

A bstract

Conventional microwave spectroscopy does not provide a proper description of intermolecular complexes since it can not produce a representative amount of such systems. The use of a pulsed nozzle overcomes this limitation because it generates a supersonic beam of gas rich in molecular complexes that can be isolated and detected. This allows it to obtain high-quality microwave spectra. Spectroscopic constants derived from these spectra generate an accurate description of the symmetry, geometry, and intermolecular bond stiffness of such complexes. In this work, the spectroscopic constants of the gas-phase dimers $\text{NH}_3 - \text{HX}$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) were analyzed. For $\text{NH}_3 - \text{HCl}$, the rotational constants, A_0 , B_0 and C_0 were found to be 188.76, 4.24 and 4.24 GHz, respectively. These values indicate that the system is a symmetric rotor with C_{3v} symmetry. The nuclear quadrupole constant, $\chi(35\text{Cl})$, and the intermolecular stretching constant, $k\sigma$, were -47.61 MHz, and 17.6 Nm^{-1} , respectively. These values are close to those of a hydrogen-bonded model. It is concluded that, in the gas phase, the $\text{NH}_3 - \text{HCl}$ dimer behaves as a weakly bound complex. The $\text{NH}_3 - \text{HBr}$ and $\text{NH}_3 - \text{HI}$ dimers gave similar results.

Keywords: microwave spectroscopy, intermolecular complexes

Introducción

La espectroscopía rotacional de microondas es el método estándar para analizar las propiedades de moléculas en fase gaseosa (1), sin embargo, esta técnica adolece de una limitación importante. Complejos moleculares débilmente enlazados, los cuales ocurren como intermedios en reacciones en fase gaseosa, no pueden ser estudiados apropiadamente mediante la espectroscopía de microondas convencional debido a las bajas concentraciones que pueden ser generadas (2).

Una variante del método, que emplea un sistema de inyección pulsada para generar una corriente supersónica de gas rica en complejos moleculares supera esta limitación y permite el aislamiento y detección de tales especies; en consecuencia es posible obtener espectros rotacionales de alta calidad de estos elusivos compuestos (3, 4).

El sistema de inyección pulsada también garantiza la formación de una alta proporción de los complejos con las consecuencias ya discutidas.

En el presente trabajo, las constantes espectroscópicas derivadas de los espectros rotacionales de los dímeros $\text{NH}_3 - \text{HX}$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) obtenidos mediante el método descrito fueron analizados para entender la naturaleza química del enlazamiento intermolecular de estas especies.

El objetivo del estudio fue establecer si tales dímeros ocurren en fase gaseosa como simples complejos enlazados por puentes de hidrógeno o son capaces de formar pares iónicos.

Materiales y métodos

Los espectros de los complejos bajo investigación fueron registrados utilizando un espectrómetro de microondas con transformadas de Fourier que emplea una boquilla pulsada. Los principales elementos del instrumento son la fuente de radiación (un oscilador de ondas invertido), la boquilla, una cavidad evacuada y el sistema de detección.

La operación para la formación de los complejos es como sigue: un pulso corto (de aproximadamente 1 milisegundo) de la mezcla gaseosa diluida en argón es expandido por medio de la boquilla en el interior de la cavidad evacuada; esto genera una alta proporción de

complejos.

En la cámara evacuada las traslaciones, rotaciones y vibraciones aleatorias de las especies son convertidas a flujo de masa dirigido y la muy baja temperatura a la que se mantiene la cámara (alrededor de 1 Kelvin) garantiza su expansión ausente de colisiones en un lapso de unos 10 microsegundos.

A continuación, el gas rico en complejos interacciona con un pulso de radiación de microondas proveniente de la fuente que dura alrededor de 1 microsegundo; esto induce una polarización macroscópica de los complejos.

El gas polarizado emite radiación de microondas espontáneamente y esta es la señal que el sistema de detección recoge y amplifica. La señal es promediada y procesada mediante transformadas de Fourier y el espectro es registrado.

Un requerimiento crítico de operación es que el tiempo de decaimiento de la polarización debe ser mucho mayor que el tiempo para la disipación del pulso de microondas. Típicamente, la polarización dura alrededor de 100 microsegundos en tanto que el pulso de radiación se disipa en alrededor de 0.2 microsegundos, tal hecho asegura la ausencia de radiación de fondo.

Resultados y discusión

Los espectros de microondas proveen un número de constantes espectroscópicas que contienen información respecto a diferentes propiedades moleculares de una especie química (5).

Aspectos tales como la simetría y geometría molecular, fuerza de enlace intermolecular y ciertas propiedades eléctricas pueden ser deducidos a partir de aquellas constantes (6).

La tabla I presenta las principales constantes de espectroscopia rotacional y propiedades moleculares.

Tabla I. Constantes espectroscópicas obtenidas por espectroscopia rotacional y propiedades moleculares.

Constante Espectroscópica	Propiedad Molecular
Naturaleza del espectro	Simetría
Constantes rotacionales A_0, B_0, C_0	Geometría radial y angular
Constante de distorsión centrífuga D_J	Fuerza de estiramiento intermolecular k_σ de un complejo débilmente enlazado
Constantes de acoplamiento de cuadrupolo nuclear $\chi_{\text{eq}}(X)$	Gradiente de campo eléctrico para un núcleo X con momento de cuadrupolo diferente de cero

Tabla I. Constantes espectroscópicas obtenidas por espectroscopia rotacional y propiedades moleculares.

Las constantes espectroscópicas descritas en la Tabla I fueron recabadas de los espectros rotacionales de las especies bajo estudio, los cuales fueron registrados mediante la técnica discutida en la sección anterior. La Tabla II recoge los resultados para el sistema $\text{NH}_3 - \text{HCl}$. De los valores obtenidos de las constantes rotacionales ($A_0 > B_0 = C_0$) se puede inferir que tal complejo es un rotor simétrico perteneciente al grupo de simetría C_{3v} .

Constantes Espectroscópicas	$\text{NH}_3 - \text{HCl}$
A_0 /MHz	188762.3
B_0 /MHz	4243.3
C_0 /MHz	4243.3
D_J /kHz	12.8
$\chi(\text{Cl})$ /MHz	-47.6
$\chi(^{14}\text{N})$ /MHz	-3.3

Tabla II. Constantes espectroscópicas del sistema $\text{NH}_3 - \text{HCl}$.

La tabla III presenta los valores de las constantes de acoplamiento de cuadrupolo $\chi(\text{Cl})$ y de fuerza de estiramiento inter-nuclear k_σ de los sistemas $\text{NH}_3 - \text{HX}$, $\text{HCN} - \text{HX}$ y $\text{Na}^+ \text{X}^-$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$). De los datos reportados se establece que las constantes de las especies son mucho más cercanas a las del modelo con enlace hidrogeno ($\text{HCN} - \text{HX}$) que a las del modelo del par iónico ($\text{Na}^+ \text{X}^-$). Por tanto, es razonable caracterizar a los sistemas $\text{NH}_3 - \text{HX}$ como complejos en los que sus subunidades están débilmente enlazadas por puentes de hidrógeno.

Sistema molecular	$\chi(\text{Cl})/\text{MHz}$	k_σ/Nm^{-1}
$\text{NH}_3 - \text{HCl}$	-47.61	17.6
$\text{HCN} - \text{HCl}$	-53.72	9.12
$\text{Na}^+ \text{Cl}^-$	-5.64	108.6
$\text{NH}_3 - \text{HBr}$	301.78	13.4
$\text{HCN} - \text{HBr}$	356.23	8.1
$\text{Na}^+ \text{Br}^-$	48.51	93.7
$\text{NH}_3 - \text{HI}$	-1324.89	7.18
$\text{HCN} - \text{HI}$	-1475.70	4.56
$\text{Na}^+ \text{I}^-$	-262.14	77.00

Tabla III. Constantes de acoplamiento de cuadrupolo y constantes de fuerza de estiramiento intermolecular de las especies $\text{NH}_3 - \text{HX}$, $\text{HCN} - \text{HX}$ y $\text{Na}^+ \text{X}^-$.

Conclusiones

En este trabajo se han analizado las constantes espectroscópicas extraídas de espectros de microondas obtenidos con una técnica de inyección pulsada de los dímeros $\text{NH}_3\text{-HX}$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) en fase gaseosa para entender la naturaleza del enlace intermolecular de estas especies. Se ha evidenciado que los tres dímeros bajo estudio ocurren en fase gaseosa como complejos débilmente enlazados mediante puentes de hidrógeno.

Agradecimientos:

El autor agradece al Departamento de Química de California State University, Fullerton, donde fueron registrados los espectros de los cuales se obtuvieron las constantes espectroscópicas analizadas en el presente trabajo.

R eferencias

1. Townes, C. H., & Schawlow, A. L. (2013). Microwave spectroscopy. Courier Corporation.
2. Gou, Q., Favero, L. B., Bahamyirou, S. S., Xia, Z., & Caminati, W. (2014). Interactions between Carboxylic Acids and Aldehydes: A Rotational Study of HCOOH-CH₂O. *The Journal of Physical Chemistry A*, 118(45), 10738-10741.
3. Hill, J. G., Legon, A. C., Tew, D. P., & Walker, N. R. (2014). Halogen Bonding in the Gas Phase: A Comparison of the Iodine Bond in B... ICl and B ... ICF₃ for Simple Lewis Bases B. In *Halogen Bonding I* (pp. 43-77). Springer International Publishing.
4. Mackenzie, R. B., Dewberry, C. T., & Leopold, K. R. (2015). Gas phase observation and microwave spectroscopic characterization of formic sulfuric anhydride. *Science*, 349(6243), 58-61.
5. Huber, K. P. (2013). *Molecular spectra and molecular structure: IV. Constants of diatomic molecules*. Springer Science & Business Media.
6. Hollas, J. M. (2013). *High resolution spectroscopy*. Butterworth-Heinemann.

IMPLEMENTATION OF TANGENTIAL KICKING FOR A SOCCER ROBOT

Paulina Vélez^{1,2}, Diego Andrade¹, Gustavo Guevara¹

Facultad de Ingeniería¹, Universidad Nacional de Chimborazo - UNACH, Ecuador
Escuela Técnica Superior de Ingeniería², Universidad de Sevilla, España

e-mail: paulinaandreavelez@gmail.com

R esumen

Este artículo describe el desarrollo de un robot jugador de fútbol, el cual integra un prototipo de disparo o patada, basado en el principio de la curva tangencial, el cual genera un arco para realizar el disparo. Este efecto se produce debido a la aceleración tangencial que se genera debido el ángulo de la patada o disparo, y lleva el objeto a moverse a través de una zona con diferentes posiciones óptimas para disparar. La patada alcanzada incrementa el grado de libertad del robot y a su vez mejora la eficiencia de tiro, facilitando el control del robot por parte del teleoperador en momentos críticos durante el juego. El control de teleoperación se consigue a través de un dispositivo móvil el cual esta conectado al robot mediante bluetooth. El control que el operario realiza permite realizar movimientos adelante-atrás, girar hacia izquierda y derecha, patear la bola. Estos movimientos se rigen a los principios de odometría que corroboran el rendimiento teórico del diseño. Resumiendo, este diseño proporciona al teleoperador aumentar su porcentaje de aciertos (goles) luego de ejecutar un tiro, esto comprándolo con un modelo convencional.

palabras claves: robot jugador de fútbol, patada tangencial, robot teleoperado, odometría

A bstract

This paper describes the development of a soccer robot, which integrates a prototype of shooting based on the principle of the tangential curve, leading to perform such action into an arch. This effect is caused by the tangential acceleration formed by the angle at the kick, and leads the object to move over an area with different optimal positions for shooting. The kick is aimed at increasing the number of the robot degrees of freedom while improving the efficiency of shooting, thus facilitating control of the device for the tele-operator at crucial moments where the described mechanism is required. Tele-operation control is achieved by Bluetooth technology and allows the device to make different movements, e.g. go forward, turn to the left or right, go back and eventually kicking, all of them referred to odometry principles that corroborate the theoretical performance of the design. To sum up, this robot design provides the teleoperator with a more effective and simpler shooting, compared to a conventional model.

keywords: soccer robot, tangential kick, tele-operated robot, odometry

Introduction

A soccer robot a remotely-operated electronic device designed to perform movements in two dimensions. In addition, the present approach has 4 Degrees Of Freedom (DOF) (1). It is used in robot soccer competitions with two teams of three members each one. The robot can have two or more wheels,

which depends on the design of each user / developer. It is managed at distance by different methods, such as radio frequency control and its related technologies, e.g. Bluetooth and WIFI (2).

The design can be limited to different rules that usually have each contest. The propulsion system can be elaborated with micro-motors or others types of engines, such as servomotors and bushels. All of them are driven by a Motor-Driver controller (3), commonly interpreted as H. Bridge based on the geometric plane.

A system of tangential kicking is a method to optimize point shooting between a soccer robot and its rivals (obstacles to beat), which has demonstrated effectiveness when being implemented (4). By applying this concept, the robot is able to solve a state of high speed by a route planning and within a specific area of shot. The objective is chosen according to the principle of least variation.

The trajectory takes place along a circular arc path, i.e. the formation of the tangential shots is performed between the original angle of the robot and the transition from the straight line of curve, after the shot is made. It is worth mentioning that the oscillation induced by the coup at the robot is deleted with original angle adjustment. The tangential cases are shown in Figure 1 (4).

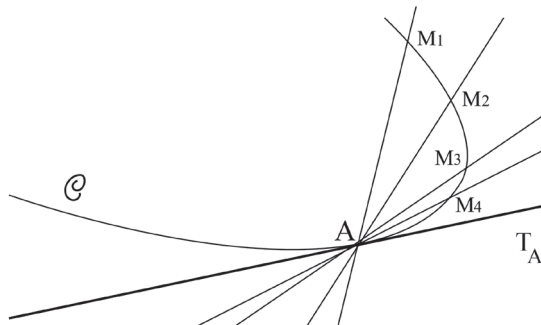


Figure 1. Cases of a tangential curve

Implementing this kicking system provides the tele-operator with a better control of the shot during a game session, thus increasing the robot chances of scoring a “goal” in the opposite arch. A greater number of trajectories at different ways of shooting are generated, by means of the tangential trajectory and the semi-effect of rotation, affecting the impact and displacement.

Methodology

Simple path shooting

A specific contact kicking point of the ball is usually used at the robot mechanism, which is strategically designed so that, at the time of the contact, the ball would meet the principle of the tangential trajectory. The following 5 steps are required to apply the simple path shooting algorithm (4), as it is shown in Figure 2.

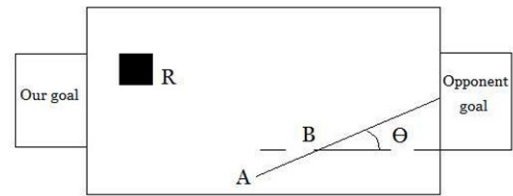


Figure 2. Simple path shooting.

Step 1. The robot shooting points must be calculated. In order to do so, the following equations must be computed:

$$\theta = \arctan[(Y_G - Y_B)/(X_G - X_B)]$$

$$X_A = X_B - K \cdot \cos\theta$$

$$Y_A = Y_B - K \cdot \sin\theta$$

Step 2. The robot R should move to point of shooting A.

Step 3. The robot R adjust the angle of shooting

Step 4. The robot R kicks the ball

Step 5. Return to step 1.

Tangential path shooting

This algorithm is useful in complex game environments, which has several obstacles, so both a path planning and a strategy are required. Figure 3 shows the path generation. The steps below are required to apply the tangential path shooting algorithm (4), as it is shown in Figure 3.

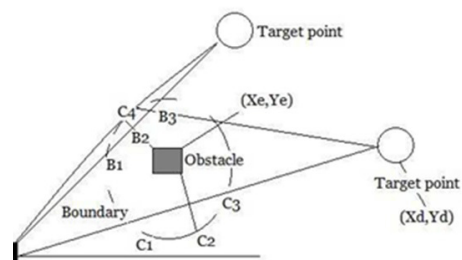


Figure 3. Tangential Path shooting.

Step 1. Set the obstacle as the center of the equation and the parameter W as it radius. Calculate the shortest path and intersect the circumference at the points C1 and C3. Set the shortest vertical path over the center of the obstacles and

calculates the intersection of the points C2 and C4 between the vertical path and the circumference.

Step 2. Check the distance between C2 and the boundary.

- If it allows the robot to reach its goal, the next step is to connect the points C1, C2 and C3, generating the path.
- If it does not allow the robot to reach the goal, then connect the point C4, the robot and the target to generate the path.

Soccer Robot design

The soccer robot has 4 actuators (DC motors): 2 of them are intended to move the robot by a mobile base, whereas the other 2 actuators are aimed at setting the kick. The actuators are commanded by a driver that has been installed in the main microcontroller. A Bluetooth module has also been mounted on the main board of the robot, enabling the communication with the mobile device. The robot design is composed of hardware and software modules, which are described in Figure 4.

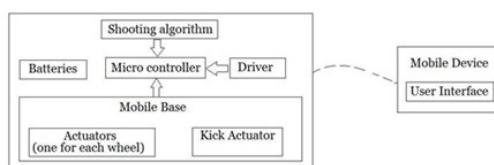


Figure 4. Soccer Robot system

Robot Operation

In order to allow the user to operate the robot, a user application for a mobile device has been elaborated. This application establishes a Bluetooth connection with the mobile device. When the connection between the robot and the mobile is created, the robot can receive data from the mobile application. The data are interpreted by the microcontroller, which also command the actuators of the kicking and the mobile base.

The user can send the followings commands from the mobile application: ahead, go back, turn left, turn right, right kick, left kick and dual kick. The mobile device establishes the communication with the robot by a bluetooth module. When the communications are established, the robot starts to get commands from the mobile application and the micro controller executes them. This is shown in Figure 5.

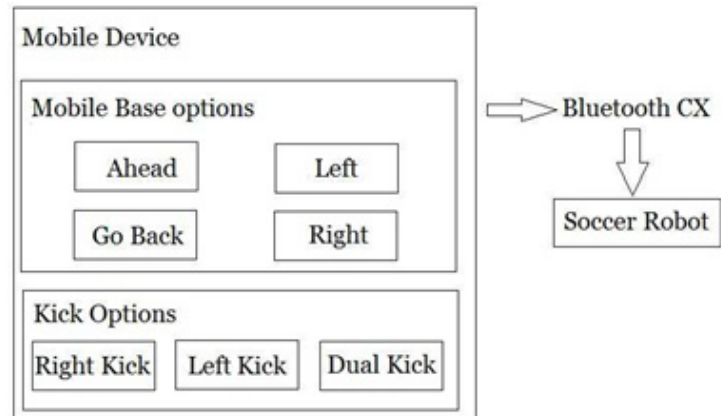


Figure 5: Functionality of the mobile application

Robot Movements

In order to generate the robot movements, a Tri-cycle drive combining steering and driving has been used (5). As the figure 6 shows (5), according to this design, each speed motor defines the trajectory the robot will take.

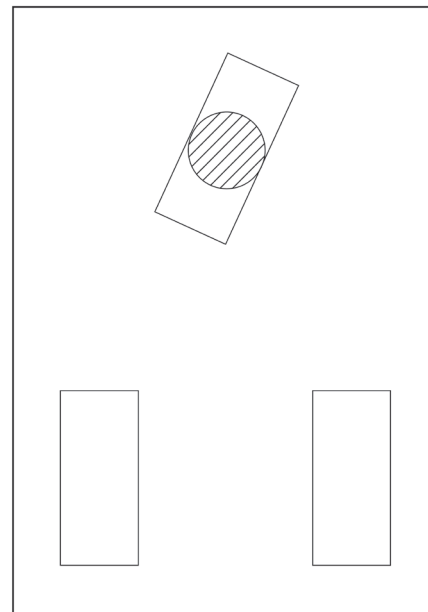


Figure 6. Try-cycle drive.

The Odometry of the robot simplifies the problem in determining the position (6) (7). In addition, the control path is based on speed differences between the wheels. The function of the system can be tested using numerical values of the system. Following a differential drive, as is shown in the figure 7, the robot is able to define its trajectory.

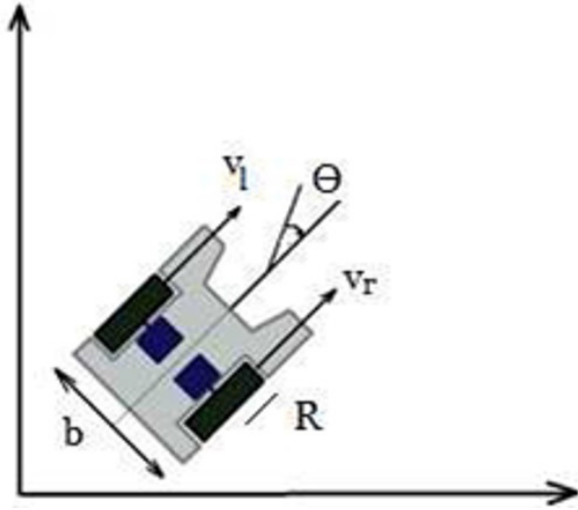


Figure 7. Robot configuration for Mobile differential model

It is required to comply with the 4 steps below (8) for the differential drive (9) to be implemented:

Step 1. Based on the model of the robot, it is necessary to set the relation between the inputs v_L and v_R and the system X , Y and ϕ , where v_L stands for speed control of the left wheel and v_R stands for speed control of right wheel.

Step 2. Establish the robot movements, considering that the robot can translate itself with linear speed v and rotate with an angular speed w , which are defined by the equations below:

$$\begin{aligned} v &= R \cdot [(v_L + v_R) / 2] \\ w &= R \cdot [(v_L - v_R) / b] \end{aligned}$$

where b is the separation between both wheels and R stands for the wheel radius.

Step 3. Compute the Integral of v and w , in order to define the robot dynamics, according to the following equation:

$$\begin{aligned} \dot{x} &= v \cdot \sin\theta \\ \dot{y} &= v \cdot \cos\theta \\ \dot{\phi} &= w \end{aligned}$$

Step 4. The robot kinematic system is defined next:

$$\begin{pmatrix} \dot{x} \\ \dot{y} \\ \dot{\phi} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} R \frac{\cos\theta}{2} & R \frac{\cos\theta}{2} \\ R \frac{\sin\theta}{2} & R \frac{\sin\theta}{2} \\ \frac{R}{L} & -\frac{R}{L} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} v_R \\ v_L \end{pmatrix}$$

Results and Discussion

Figure 8 shows the developed robot. This prototype has been tested in various real competitions. The mobile application also has been tested in different mobile devices, such as cellphones and tablets. Tests on the robot were carried out by



Figure 8. Soccer robot prototype.

means of both the conventional and tangential models, whose aim was to compare the hits between them. According to the results, the latter model makes the robot reach a higher percentage in scored penalty kicks than the former. In fact, Table 1 shows that the tangential model achieves an increase of 30% in effectiveness with respect to the conventional model.

A sample of 10 shots	Tangential kick	Normal kick
Shot speed with motionless ball	1.3 m/s	1 m/s
Reception angle	90°	90°
Angle shot	110°	75°
Scored penalty kicks	7	5
Percentage of score penalty kicks	70°	50°
Scored penalty kicks in a game	7	4
Hits percentage in a game	70%	40%

Table 1: Results of the subjective analysis

The kicking speed increases 0.3m/s when the tangential algorithm is applied, while the reception angle keeps the same value. Another advantage for the tangential kick is the increase of the shooting angle, i.e. without implementing the tangential kick the angle saturates at 75°, whereas it goes up to 110° when the tangential path algorithm is applied.

This increase at the shooting angle allows the robot to get a greater number of fine shots (successes), for both penalty kicks and shots performed in the middle of the game. Therefore, its precision improves 2 points in comparison with a shooting without applying the tangential kick.

Finally, as it can also be seen at Table 1, the tangential model provides the tele-operator with a broader angle shot, thus making the robot handling and operation much easier.

Conclusions

Implementing the tangential kick algorithm on a Soccer Robot leads to an increase of the number of scored goals (fine shots) during the match, hence the success percentage moves from 40% to 70% after implementing the tangential algorithm.

Referencias

1. Vladan P.: Robot Soccer, RoboCup 2009 (WISA09), 2010.
2. Arvin F., Samsudin, K., Nasser M.: Android Mobile Phone Controlled Bluetooth Robot Using 8051 Microcontroller, International Journal of Scientific Engineering and Research (IJSER), 2014. 2(7), pp. 14-17.
3. Pahuja R., Kumar N.: Design of a Differential-Drive Wheeled Robot Controller with Pulse-Width Modulation, 2009 Conference on Innovative Technologies in Intelligent Systems and Industrial Applications (CITISIA 2009), pp. 143-147.
4. Yang G.: Improved Shooting Algorithm Based on Zone and Tangential Arc in Robot Soccer, Proceedings of the 2009 International Symposium on Web Information Systems and Applications (WISA09), pp. 267-269.
5. Goris K.: Autonomous Mobile Robot Mechanical Design, Universiteit Brussel - Thesis. 2005. pp. 9-27,
6. Borenstein J., Feng L.: Measurement and Correction of Systematic Odometry Errors in Mobile Robots, Invited paper for the Journal of Robotic Systems, Special Issue on Mobile Robots, 14(4), pp.231-249
7. Borenstein J., Feng L.: Mobile Robot Positioning & Sensors and Techniques, IEEE Transactions on Robotics and Automation. 1996 12(6), pp.869-880.
8. Solaque L., Molina M., Rodríguez E.: Seguimiento de trayectorias con robot móvil de configuración diferencial, Ing.USBMed. 2014. 5(1), pp. 26-34.
9. Ollero A.: ROBOTICA, Manipuladores y robots móviles, Marcombo.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

Temática y difusión

PERFILES (ISSN 1390-5740) es una revista científica publicada por la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (Riobamba, Ecuador) con una periodicidad semestral, cuya misión es difundir la información científico-tecnológica relacionada con las áreas del conocimiento predominantes en nuestra institución y ramas afines.

El principal objetivo de la revista es la publicación de artículos originales o de revisión, comunicaciones breves, informes técnicos, normas, especificaciones, cartas al editor, comunicaciones a congresos y, en definitiva, otros contenidos que resulten de interés para la comunidad científica.

Áreas temáticas

- Física Aplicada
- Ciencias Biológicas
- Ciencias de la Salud
- Química Aplicada
- Matemática Aplicada
- Energías Alternativas

Presentación y estructura de los manuscritos

Página web

La revista PERFILES dispone de página web, donde se encuentran disponibles todos los formatos referidos en el presente texto:

http://iner.esPOCH.edu.ec/Revista_Cientifica/Index.html

Política de autoría y exclusividad

Los artículos deben ir acompañados de un documento firmado por todos los coautores, o en su defecto mediante firma de representación del autor principal, donde se incluya:

- Declaración de autoría firmada por autor principal y coautores que han intervenido en la planificación, ejecución, obtención de datos, interpretación de resultados, así como en su redacción y revisión. Nombre, apellidos, dirección, teléfono, fax y correo electrónico del autor de contacto -en el apartado autores del cuerpo del manuscrito se diferenciará mediante el símbolo * precediendo al nombre-, y nombre, apellidos y correo electrónico de los coautores.
- Consentimiento del autor principal y coautores sobre el carácter original los contenidos del artículo, y de no incurrir en delito de plagio.
- Consentimiento informado de que el Grupo Editorial de la revista Perfiles se reserva los derechos de autor -*Copyright*- de los manuscritos recibidos y aceptados para su publicación.

El mencionado formato se encuentra disponible en la página

web de la revista Perfiles bajo el título DECLARACIONES UNIFICADAS.

Normas generales sobre la estructura del artículo

Los manuscritos serán enviados online en formato DOC o DOCX de Microsoft Word®. Se utilizarán páginas tipo A4 con formato por defecto de márgenes -2,5 superior e inferior y 3 derecho e izquierdo-. Interlineado: 1,5 líneas (doble espacio). Tipo de fuente Times New Roman tamaño 12 para el texto general y 14 negrita para títulos y subtítulos contenidos en el texto. Los contenidos adicionales -tablas, figuras, gráficos- se enviarán en un documento independiente identificados como Tabla 1., Tabla 2., Figura 1., Gráfico 1., etc. Al final de dicho documento de incluirán las leyendas identificadas del mismo modo para que quede clara su equivalencia con las tablas, figuras y gráficos adjuntos. La extensión de cada artículo deberá estar entre 5 y 10 páginas.

La primera página debe contener:

1. Título completo del artículo. Deberá ser claro y conciso -máximo 18 palabras-. El título será representativo del contenido del manuscrito. Tipo de fuente Time New Roman tamaño 16 (negrita). Máximo 20 palabras.
2. Nombres completos de autor y otros coautores. Los nombres de los autores se escribirán en minúsculas con la primera letra en mayúscula. Los nombres y apellidos compuestos se unirán mediante un guión (Ej. Jesús-Javier). Cada autor irá precedido de un número en superíndice que se identificará con la institución de pertenencia o correspondiente afiliación. Tipo de fuente Time New Roman tamaño 14.
3. Resumen o abstract en español e inglés. De 150 a 200 palabras. Resumirá el marco teórico que justifica el trabajo realizado, objetivos bien definidos, métodos empleados, resultados y principales conclusiones.
4. Palabras clave. Máximo 6 palabras que definan los puntos más importan-

tes del trabajo.

Elementos principales del manuscrito

Introducción. Su función es identificar el marco teórico del tema tratado, que será contextualizado con el fenómeno investigado para determinar los objetivos generales y específicos del trabajo. No debe contener excesivas referencias bibliográficas ni abreviaturas.

Material y métodos. Este apartado debe informar de toda la metodología y materiales experimentales utilizados. Al mismo tiempo permitirá que el ensayo sea reproducible en las mismas condiciones que las indicadas por los autores. Si se ha recurrido a procedimientos diseñados y publicados por otros autores deberán citarse dichas publicaciones.

Resultados. Contiene toda la información relativa a los hallazgos obtenidos, una vez aplicados los métodos estadísticos (en caso de necesidad). Puede incorporar tablas, diagramas, o cualquier otro elemento adicional que amplíe y/o facilite la presentación de los resultados.

Discusión. Análisis en profundidad de los datos obtenidos, comparándolos con los de otros autores. En este apartado se deben debatir los resultados más novedosos e importantes, su contribución, aplicabilidad, etc.

Conclusiones. Respuestas claras, directas y concisas a las preguntas u objetivos iniciales del estudio. Puede incluir propuestas de nuevas líneas de investigación basadas en los resultados discutidos o nuevas hipótesis, siempre que estén bien sustentadas por los resultados.

Agradecimientos. Personas o instituciones que han contribuido de alguna forma en la investigación o redacción del texto, ya sea mediante financiación, aportación de conocimientos o actividad investigadora.

Conflicto de intereses. Indicar si existen intereses particulares por parte de los autores o de la entidad científica que pudiesen afectar directa o indirectamente a los resultados.

Referencias bibliográficas. Tanto en el texto -citas- como en la bibliografía la referenciación debe cumplir con los estándar

dares del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (CIDRM) o Estilo Vancouver. La incorporación de bibliografía gris o contenidos de dudosa procedencia o calidad científica (en especial de origen web) será considerada un error grave y motivo de rechazo de la propuesta de publicación. Las publicaciones utilizadas en la bibliografía deberán pertenecer a revistas indexadas con su correspondiente identificador: DOI (Digital Object Identifier), ISBN (International Standard Book Number) o ISSN (International Standard Serial Number).

Para facilitar la revisión de estos elementos por parte de los autores hemos puesto a su disposición una tabla con los PUNTOS DE CONTROL AUTORES más importantes o checklist.

Estilo Vancouver. Resumen

Dada la política de referenciación de la revista perfiles, a continuación sólo se explican aquellas referencias permitidas por la revista.

Referenciación de las citas dentro del texto:

Las referencias deben ir numeradas por orden de aparición con números arábigos y entre paréntesis.

Ejemplo: El principal efecto de los IMAO es la inhibición de la monoamino oxidasa (1), una enzima implicada en la degradación de neurotransmisores (2)...

Si en la misma cita se incluyen más de una referencia, éstas irán juntas entre paréntesis y separadas por comas. Si estas referencias son consecutivas se pueden unir la primera y última mediante un guión, prescindiendo de las centrales.

Ejemplo: El principal efecto de los IMAO es la inhibición de la monoamino oxidasa (1,4,7), una enzima implicada en la degradación de neurotransmisores (2-5,7)...

Ciertas revistas pueden pedirnos que las citas vayan sin paréntesis, y en superíndice. Las demás especificaciones vistas se mantienen tal cual han sido explicadas.

Ejemplo: El principal efecto de los IMAO es la inhibición de la monoamino oxidasa 1,4,7, una enzima implicada en la degradación de neurotransmisores 2-5,7...

En la revista Perfiles no se aplica este segundo modelo basado en el superíndice.

Los autores de la revista Perfiles pueden decidir si desean firmar sus publicaciones con uno o dos apellidos, siempre que en el segundo caso estos vayan unidos mediante guión: Morales-López M, Yuste-Brioso E

Redacción de las referencias bibliográficas:

En el apartado bibliografía o referencias, los artículos empleados aparecerán en el mismo orden que en el texto principal y precedidos de un número arábigo que indicará dicho orden de aparición.

Ejemplo:

El principal efecto de los IMAO es la inhibición de la monoamino oxidasa (1), una enzima implicada en la degradación de neurotransmisores (2)...

En el ejemplo que venimos utilizando la bibliografía se escribiría:

1. Cáceres-Morales JM. 2003...
2. Chozas G, Prieto-Rodríguez F. 2000...

Libros

Autor/es (en orden de aparición). Título. Volumen. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año.

Ejemplo: Morales F, Francis RD, Moreira J. Guía práctica de diagnóstico de laboratorio. Vol 2. 13ª ed. Madrid: McGraw Hill; 2006.

Capítulos de libros:

Autor/es del capítulo (en orden de aparición). Título del capítulo. En: Director/coordinador/ Editor literario del libro. Título del libro. Volumen. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. p. Página inicial de capítulo-página final de capítulo.

Ejemplo: Robert T, Hobbs DG. Alteraciones clínicas más comunes en la encefalopatía espongiiforme bovina. En: Furiase R, Falconi HM, editores. Enfermedades bovinas frecuentes. Vol 3. 14ª ed. México: McGraw-Hill; 2010. p. 203-245

Artículos de Revistas

Autor/es del artículo (un máximo de 6 autores en orden de aparición, a partir

del sexto autor se escribe "et al."). Título del artículo. Abreviatura de la revista. Año; Volumen (sin Vol., sólo el número): páginas.

Ejemplo 1: Romero C, Barón SD, Morales M, Pazmiño JR, Figueroa B, Fernández F, et al. Estudio epidemiológico de la leishmaniosis en el sur de Almería. J Parasitol. 2012; 3: 14-18.

Si los autores son menos de 6 se escriben todos.

Ejemplo 2: Romero C, Barón SD, Morales M. Estudio epidemiológico de la leishmaniosis en el sur de Almería. J Parasitol. 2012; 3: 14-18.

Si el autor es una organización escribiremos el nombre de la organización en el lugar donde aparece el autor/es.

Ejemplo: Organización Mundial de la Salud. Estudio epidemiológico de la leishmaniosis en el sur de Almería. J Parasitol. 2012; 3: 14-18.

Cuando lo que citamos es el suplemento de un volumen de una revista se indica después del volumen:

Ejemplo: Romero C, Barón SD, Morales M, Pazmiño JR, Figueroa B, Fernández F, et al. Estudio epidemiológico de la leishmaniosis en el sur de Almería. J Parasitol. 2012; 3 Suppl 1: 14-18.

Si estamos citando es revista que no tiene número ni volúmenes se indica el año: páginas.

Ejemplo: Romero C, Barón SD, Morales M, Pazmiño JR, Figueroa B, Fernández F, et al. Estudio epidemiológico de la leishmaniosis en el sur de Almería. J Parasitol. 2012: 14-18.

Artículos de revistas disponibles en internet:

Debe indicarse entre corchetes después del nombre de la revista [internet] y después del año [fecha de consulta]. Al final se indica "Disponible en: URL"

Ejemplo: Morales M, Pazmiño JR. Estudio epidemiológico de la leishmaniosis en el sur de Almería. J Parasitol [Internet]. 2012 [citado 14 Enero 2004]; 3: 14-18. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/...>

Libros o monografías disponibles en internet:

Autor/es. Título. [Internet]. Edición. Lugar de publicación: Editorial; fecha de publicación. [fecha de última actualización; fecha de consulta]. Disponible en: URL.

Ejemplo: Morales M. Instituciones públicas y su dirección. [Internet]. 53ª ed. Barcelona: Alba Editorial; 2006 [actualizado 12 Enero 2010; citado 14 Enero 2014]. Disponible en: <http://www.albaeditorial.com/science/book/pii/...>

Página web de una sede oficial:

Sede Web [Internet]. Lugar de publicación: Editor; Fecha de comienzo [fecha de última actualización; fecha de consulta]. Páginas [o pantallas aproximadas]. Disponible en: URL.

Ejemplo: Portal andaluz de economía [Página principal en Internet], Andalucía: Moreira F; 2007 [actualizada en febrero de 2011; acceso 16 febrero 2011]. [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: <http://www.mnec.gob.es/>

Programas informáticos:

Autor/es. Título [programa informático en “tipo de soporte”]. Versión del producto. Lugar: Empresa que lo ha fabricado o programado; año.

Ejemplo: Núñez R. Gestión integral de auditorías internas [programa informático en CD-ROM]. Versión 4.0. Quito: Núñez Entertainment; 1995.

Base de datos:

Autor/es. Título [base de datos en “tipo de soporte”]. Edición. Lugar: Empresa que lo ha fabricado o programado; año.

Ejemplo: Núñez R. Datos generales sobre demografía ecuatoriana [base de datos en CD-ROM]. 3ª Ed. Quito: Núñez Databases; 1995.

Actas de congresos o eventos:

Editor/es. Título del trabajo. Título del congreso; fecha del congreso; lugar del congreso. Lugar de publicación: editor; fecha.

Ejemplo: Hoffern G, Longer TG, editores. Papel de las células hepáticas en el estudio de los tumores. X Congreso Ibérico del Cáncer; 2004 Sep 12-18; Madrid. Barcelona: Springer; 2005.

Ponencias en congresos:

Autor/es. Título del trabajo. En: Editor/es. Título de la obra. Título del congreso; fecha del congreso; lugar del congreso. Lugar de la publicación: editor; fecha. Páginas. Ejemplo: Hoffern G, Longer TG. Papel de las células hepáticas en el estudio de la leishmaniosis. En: Morales M, Morillas F, editores. Parasitosis más frecuentes en la Península Ibérica. X Congreso Ibérico de Parasitología; 2004 Sep 12-18; Granada. Madrid: Springer; 2005. p. 236-240.

Tesis doctorales (tesis de posgrado o PhD.):

Excepcionalmente se admitirán tesis de posgrado con contenidos de gran relevancia sobre los temas tratados y resultados o conclusiones de tal originalidad que no puedan encontrarse entre los artículos disponibles en la web u otros medios físicos.

Autor/es. Título de la tesis [tesis doctoral]. Lugar de publicación: editor; fecha. Ejemplo: Fernández-Ruiz L. Estudio de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales [tesis doctoral]. Riobamba: ESPOCH; 2008.

Informes de patentes:

Autor/es, inventor/es; titular de la patente, asignado. Título de la patente. País de expedición de la patente código del país número de la patente. Fecha de publicación.

Ejemplo: Morales-Martínez J, Navarro f, inventores; Navarro Research SL, asignado. Producto antimicrobiano obtenido del aceite esencial de *Thymus vulgaris*. Spanish patent ES 2536941. 2009 Mar 3

Otros tipos de publicaciones aceptadas

Artículos de revisión. La estructura de las revisiones se adaptará a los contenidos y temática abordados, no siguiendo la estructura de los artículos originales (comentada en el anterior apartado). El número de referencias debe ser muy superior al de los artículos originales (entre 60 y 100 citas), de modo que todos los temas desarrollados tengan suficiente fundamento bibliográfico como para justificar los datos presentados. La extensión de este tipo de documentos se situará entre 10 y 20 páginas.

Comunicaciones o artículos breves, comunicaciones a congresos o seminarios. La estructura de este tipo de manuscritos será igual o similar a la de los artículos originales, diferenciándose solo en la ex-

tensión de los trabajos: máximo 3 páginas. En el caso de los informes técnicos podrán llegar a 5 páginas, y su estructura podrá variar de la del artículo original en función de los contenidos. En este tipo de publicaciones el material adicional (tablas, artículos, gráficos, etc.) estará limitado a 4 elementos.

Cartas al editor. Estos textos se caracterizarán por contener información puntual de interés general relacionada con las líneas temáticas de la revista o con la propia comunidad científica, así como reflexiones o correcciones de algún artículo publicado en volúmenes anteriores. El número máximo de páginas para estos trabajos será de 1,5 a 2.

Selección, revisión y corrección de los manuscritos.

Criterios de evaluación inicial

- Los manuscritos recibidos serán sometidos a una valoración inicial por parte del equipo editorial atendiendo a los siguientes criterios:
- Orden de recepción. Los artículos serán incorporados al proceso de validación en estricto orden de entrada. Esta premisa se respetará a menos que su contenido o relevancia justifiquen el ingreso inmediato.
- Originalidad. Las producciones científicas con alto grado de originalidad tendrán prioridad. Un trabajo será considerado original cuando favorezca la ampliación del conocimiento en campos no cubiertos por trabajos anteriores.
- Extensión de su aplicación. Las publicaciones con resultados de utilidad e impacto internacional prevalecerán sobre aquellas cuyo contenido sea aplicable en regiones concretas o más restringidas.
- Grado de aplicación. Los artículos cuyas conclusiones permitan solucionar de forma directa problemas actuales y/o proporcionen mejoras en la calidad de vida predominarán sobre los que aporten contenidos más abstractos o menos productivos para la colectividad.

- Metodología. Se valorará que la metodología experimental del artículo cumpla con los requisitos mínimos exigidos por la comunidad científica.

- Redacción. Los textos que cumplan con los estándares de calidad en redacción científica serán seleccionados antes que aquellos que comporten observaciones y/o solicitudes de reedición por parte del Comité Editorial. Recomendaciones de redacción:

- La sintaxis utilizada debe ser concisa y directa. Evitar giros y redundancia de información. No utilizar complementos estéticos de la escritura más propios del arte literario que de la comunicación científica.

- Apropiaada estructura y organización de contenidos. La lectura debe seguir una secuencia lógica y comprensible.

- Uso y redacción correcta de la unidades de medida. En lo posible deben utilizarse unidades del Sistema Internacional (S.I.). En aquellos casos en los que el trabajo demande la utilización de otros sistemas alternativos -anglosajón, imperial, cegesimal, etc.- se recomienda que los resultados incluyan la equivalencia en el S.I.

- No abusar del uso de abreviaturas. Las abreviaturas deberán identificarse entre paréntesis () junto al término original, la primera vez que aparezcan en el texto. Evitar el uso de abreviaturas en el título.

- Las referencias se ajustarán a las normas establecidas por el Comité Editorial de la revista PERFILES (estilo Vancouver). Citar en la medida de lo posible artículos publicados en revistas -impresas o en formato digital- y evitar la referenciación directa de páginas web o cualquier bibliografía de dudosa calidad o procedencia.

Estos elementos deberán ser verificados de forma detallada por el/los autor/es de las publicaciones antes de su presentación al Comité Editorial de la revista PERFILES.

Niveles de corrección

El equipo editorial de la revista PERFILES considera tres niveles de edición y/o correcciones en los contenidos:

- Correcciones mínimas. Son pequeños errores que pueden solucionarse de forma rápida y sencilla, y que no interfieren de forma significativa con el proceso de edición.
- Correcciones de contenido. Implican la realización de modificaciones relevantes en el texto antes de que el manuscrito continúe con el proceso editorial, en caso de ser aceptadas por el autor. El revisor deberá justificar dichas modificaciones mediante un escrito dirigido al Comité Editorial.
- Correcciones mayores. Cuando la cantidad de observaciones indicadas es tal que el artículo es devuelto en su totalidad sin posibilidad de edición. Queda a

juicio del autor la decisión de reescribir el documento antes de volver a presentarlo.

Sobre la revisión

Desde el grupo editorial de la revista PERFILES queremos destacar la importancia de principios como la calidad de expresión, propiedad intelectual y rigor científico. Estos elementos son requisitos indispensables en una actividad profesional que evoluciona y se actualiza de forma constante. Para mantener estos estándares de calidad hemos establecido varias etapas de intervención o examen de los manuscritos recibidos:

1. Verificación inicial de que el trabajo cumple con todos los puntos de control establecidos por el cuerpo editorial.
2. Análisis de similitudes con textos ya existentes como medida de vigilancia antiplagio.
3. Revisión preliminar de los contenidos del texto.
4. Si el Consejo Editorial presenta una valoración positiva el proceso de edición continúa. En caso negativo

se informará al autor sobre los motivos de tales conclusiones.

5. Envío a dos revisores designados por el Comité Editorial de forma anónima -revisión por pares-. Los revisores expondrán un juicio profesional, crítico y constructivo sobre los aspectos valorados que será notificado al/los autor/es en caso de necesidad. Los revisores serán miembros externos seleccionados en base a su conocimiento sobre la temática revisada.

6. Exploración definitiva por parte del Editor General orientada a cuestiones puntuales de la presentación como son la gramática, ortografía, abreviaturas, signos, símbolos, unidades, etc.

Colaboradores:

Julio Idrovo Novillo - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador
Irene Gavilanes Terán - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador
Miguel Carrasco - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador
Alex Padilla - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador
Magdy Echeverría - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador
Sabino Menolasina - Universidad de Los Andes, Venezuela
Dianaly Rodríguez - Universidad de Los Andes, Venezuela
Cristina Calderón - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
David Jaramillo - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
Anita Ríos - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
Guido Brito - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
Diego Armando Damian - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
Silvia Alexandra Salazar Huaraca - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
Marco Vinicio Rodríguez Llerena - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
Anita Cecilia Ríos Rivera - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
Franklin Enrique Cargua Catagna - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
Morelva Toro de Méndez - Universidad de Los Andes, Venezuela
Mercedes López de Sánchez - Universidad de Los Andes, Venezuela
Robert Cazar - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador
Paulina Vélez - Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
Diego Andrade - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador
Gustavo Guevara - Universidad de Sevilla, España

Revista Perfiles.

Panamericana Sur, km 1 ½ - ESPOCH- Facultad de Ciencias.

Riobamba (Ecuador).

Telf.: (593) (03) 2998200 ext. 161

Correo electrónico: revistaperfiles@epoch.edu.ec

Dirección web: http://iner.epoch.edu.ec/Revista_Cientifica/Index.html



ACREDITADA