

Bioespequelometría: Un enfoque interdisciplinario en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis IFFB-ULA

Medição de *bio-speckle*: uma abordagem interdisciplinar na Faculdade de Farmácia e Bioanálise IFFB-ULA

Biospecklemetry: An Interdisciplinary Approach at the IFFB-ULA School of Pharmacy and Bioanalysis

María Lobo ¹

Efrén Andrades ²

Jesús Andrades ³

Ana Velásquez ⁴

Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela^{1,2,3}

Centro de Investigaciones de Astronomía y Tecnologías Aplicadas Francisco J. Duarte,
Mérida, Venezuela⁴

Centro Nacional de Tecnologías Ópticas, Mérida, Venezuela⁴

mllsulbaran@gmail.com¹

efrenandrades@ula.ve²

koflasjesus@gmail.com³

anita.velasquezv@gmail.com⁴

Fecha de recepción: 07/09/2025

Fecha de aceptación: 04/01/2026

Pág: 25 – 39

DOI: 10.5281/zenodo.20448130

Resumen

La técnica de bioespequelometría láser es objeto de análisis en este documento, que traza su evolución, alcance y aplicaciones dentro de la Sección de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (IFFB-ULA). El fenómeno del *speckle*, una manifestación granular de luz coherente sobre superficies activas o medios biológicos dinámicos, se transforma en *biospeckle* en medios biológicos dinámicos, lo que permite la detección y caracterización de procesos vitales.



Esta obra está bajo licencia CC BY-NC-SA 4.0.

Los orígenes de la técnica se remontan a la década de 1970, y su transición de un método fotográfico a uno digital en la década de 1990 fue crucial para su viabilidad y utilidad en tiempo real. La investigación pionera del IFFB-ULA, validó la técnica para la detección de parásitos y bacterias, y la evaluación de efectos farmacológicos. El avance metodológico se ha manifestado en la optimización continua de los métodos de procesamiento de datos, desde las diferencias temporales hasta el uso de modelos estadísticos avanzados. La construcción de un prototipo de biospequelómetro y la colaboración con el Laboratorio de Óptica Aplicada del IVIC-MÉRIDA y el Centro Nacional de Tecnologías Ópticas (CNTO), han sido hitos fundamentales que han impulsado la estandarización, la accesibilidad y la innovación. En conclusión, la biospequelometría se ha consolidado como una herramienta de procesamiento óptico de imágenes versátiles, con aplicaciones que abarcan desde la biomedicina hasta la ciencia de materiales, lo que demuestra su potencial como una técnica precisa y confiable para la investigación interdisciplinaria.

Palabras clave: biospequelometría, láser, procesamiento de datos, sistemas biológicos.

Resumo

Este documento analisa a técnica de bioespectro a laser, traçando sua evolução, escopo e aplicações na Seção de Biotecnologia do Instituto de Pesquisa da Faculdade de Farmácia e Bioanálise da Universidade dos Andes (IFFB-ULA). O fenômeno de *speckle*, uma manifestação granular de luz coerente em superfícies ativas ou meios biológicos dinâmicos, transforma-se em bioespectro em meios biológicos dinâmicos, possibilitando a detecção e caracterização de processos vitais. As origens da técnica remontam à década de 1970, e sua transição de um método fotográfico para um método digital na década de 1990 foi crucial para sua viabilidade e utilidade em tempo real. Pesquisas pioneiras no IFFB-ULA validaram a técnica para a detecção de parasitas e bactérias, e para a avaliação de efeitos farmacológicos. Os avanços metodológicos se manifestaram na otimização contínua dos métodos de processamento de dados, desde diferenças temporais até o uso de modelos estatísticos avançados. A construção de um protótipo de bio-especkleômetro e a colaboração com o Laboratório de Óptica Aplicada do IVIC-MÉRIDA e o Centro Nacional de Tecnologias Ópticas (CNTO) foram marcos fundamentais que impulsionaram a padronização, a acessibilidade e a inovação. Em conclusão, a medição de *bio-especkle* se consolidou como uma ferramenta versátil de processamento de imagens ópticas, com aplicações que vão da biomedicina à ciência dos materiais, demonstrando seu potencial como uma técnica precisa e

confiável para pesquisa interdisciplinar.

Palavras-chave: medição de *bio-especkle*, laser, processamento de dados, sistemas biológicos.

Abstract

The technique of laser biospecklemetry is analyzed in this document, which traces its evolution, scope, and applications within the Biotechnology Section of the Research Institute of the Faculty of Pharmacy and Bioanalysis at the University of the Andes (IIFFB-ULA). The speckle phenomenon, a granular manifestation of coherent light on active surfaces or dynamic biological media, is transformed into biospeckle in dynamic biological media, enabling the detection and characterization of vital processes. The origins of the technique date back to the 1970s, and its transition from a photographic to a digital method in the 1990s was crucial to its viability and usefulness in real time. The pioneering research of the IIFFB-ULA validated the technique for the detection of parasites and bacteria and the evaluation of pharmacological effects. Methodological advances have been evident in the continuous optimization of data processing methods, from temporal differences to the use of advanced statistical models. The construction of a prototype biospecklemeter and collaboration with the Applied Optics Laboratory at IVIC-MÉRIDA and the Centro Nacional de Tecnologías Ópticas (CNTO), have been fundamental milestones that have driven standardization, accessibility, and innovation. In conclusion, biospecklemetry has established itself as a versatile optical image processing tool, with applications ranging from biomedicine to materials science, demonstrating its potential as a precise and reliable technique for interdisciplinary research.

Keywords: biospeckle, laser, data processing, biological systems.

Introducción

Cuando se ilumina una superficie que muestra actividad biológica o física con un rayo de luz coherente, como un láser (ver Figura 1A), la luz reflejada tiene un aspecto granular, es decir, presenta manchas de luz y sombra distribuidas de manera aleatoria, que varían con el tiempo, creando una impresión visual similar a la de “agua hirviendo” (ver Figura 1B). Este fenómeno se conoce como “speckle” y surge de la dispersión de la luz coherente sobre objetos que muestran algún tipo de actividad, según Pajuelo et al. (2003) (Ver Figura 1).

Por otra parte, la metodología del *Biospeckle* Láser, o *speckle* biológico, comenzó con la creación del láser en los años sesenta. Aunque el fenómeno del *speckle* se registró por primera vez en esa época, su uso en el ámbito biológico para investigar tejidos y procesos dinámicos se gestó una década después, durante los años setenta. Desde entonces, su evolución ha sido favorecida por el desarrollo de la tecnología, como el aumento en la capacidad de computación, la optimización de cámaras de alta definición y el avance en los algoritmos para el análisis de imágenes. Estas innovaciones han permitido que el *Biospeckle* se establezca como una herramienta importante con aplicaciones relevantes en diferentes campos, incluyendo la agricultura, la biomedicina, la biofísica y la ciencia de materiales y fluidos.

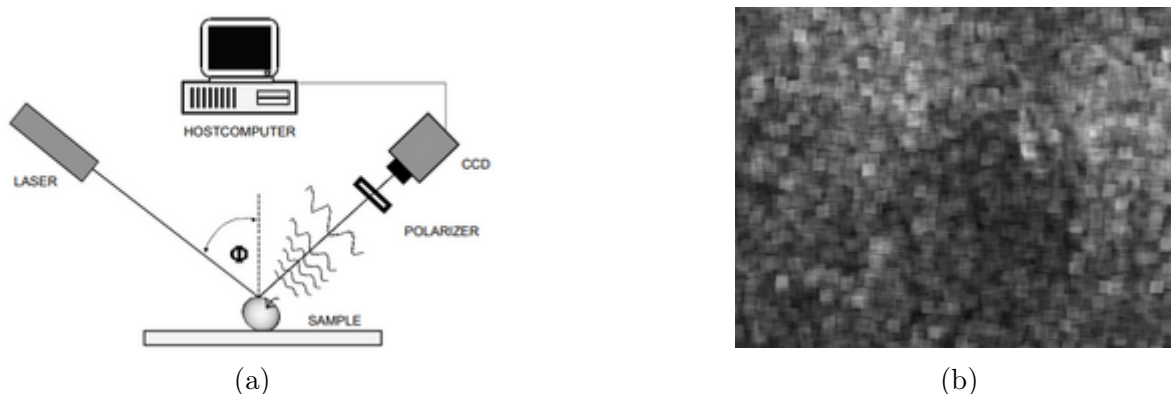


Figura 1: Cuando se ilumina una superficie (a) con un láser, la luz reflejada se observa como agua hirviendo (b).

Fuente: Pajuelo et al. (2003).

Así mismo, el *Biospeckle* se clasifica dentro del *speckle* dinámico debido a que los sistemas biológicos son medios en movimiento generando un patrón móvil o dinámico. Esta línea de investigación, en su momento, buscaba establecer una conexión concreta entre las fluctuaciones observadas en el patrón de *Speckle* y el movimiento de los centros de dispersión dentro de los organismos vivos. A partir de tal búsqueda, se observó que la manifestación clave de estas fluctuaciones se da con la reducción en el contraste del patrón de *Speckle*. Más tarde, en la década de 1980 la aplicación de este efecto se expandió al campo biomédico, con investigadores como Fercher y Briers (1981) empleándolo para estudiar el flujo sanguíneo en la retina. Aunque la técnica funcionaba, hubo la necesidad de procesar las fotografías antes de poder acceder a la información, ya que el tiempo de procesamiento fue un problema que trajo consigo la pérdida del interés en la técnica y esta se desvaneció. Ya en los años 90, los nuevos métodos digitales, permitieron el desarrollo de una versión en tiempo real del método mucho más útil y eficiente.

Basándose en esta evolución, la sección de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, se ha dado a la labor de participar activamente en el desarrollo de tecnologías innovadoras centradas en la

bioespequelometría. En el año 2010 en un acuerdo preliminar de la Sección de Biotecnología, liderado por la Profesora Hilda Cristina Grassi, con el Laboratorio de Óptica Aplicada del IVIC-MÉRIDA, dirigido por el Doctor Humberto Cabrera, se inició un intercambio para ensayar los efectos *in vitro* de ciertos factores sobre células de parásitos o células de bacterias usando la técnica Óptica de “*Biospeckle*” Láser sobre muestras controles y muestras afectadas por la actividad de Fármacos.

Este artículo tiene como objetivo revisar el desarrollo de la técnica de *Biospeckle*, destacando estudios claves y la evolución de la tecnología antes descritos, con un enfoque particular en su aplicación en sistemas biológicos y los avances realizados en instrumentación y procesamiento de datos en la sección de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. En este sentido, el objetivo primordial es de realizar una investigación de carácter documental, constatando el desarrollo de la técnica de *Biospeckle* y la evolución tecnológica. En síntesis, este estudio se propone mostrar los avances logrados en instrumentación y procesamiento de datos por la Sección de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (IIFFB) de la Universidad de Los Andes.

Desarrollo

El desarrollo de la bioespequelometría como herramienta de procesamiento óptico de imágenes ha seguido una trayectoria evolutiva marcada por la confluencia de avances metodológicos y la expansión de sus aplicaciones a través de diversas disciplinas científicas. Los estudios iniciales llevados a cabo en la sección de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes por García (2011), Lobo (2011) y Belandria (2011) (Ver Figura 2) establecieron un precedente importante al demostrar la viabilidad de la técnica analítica en la investigación de sistemas biológicos (Ver Figura 2).

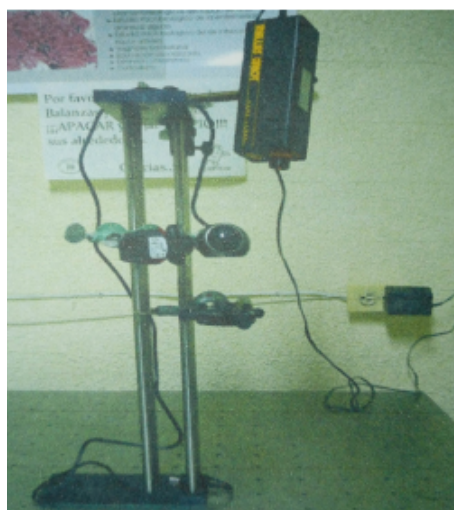


Figura 2: Equipo óptico “*speckle*” y mesa antivibratoria.
Fuente: Belandria (2011).

Comencemos con el estudio de García (2011); este se centró en la estandarización de la técnica para la detección de parásitos, subrayando su potencial para agilizar los procesos de análisis en comparación con los métodos tradicionales de cultivo y ensayo, lo que a su vez reduce el riesgo de contaminación y el tiempo requerido para obtener resultados. Por su parte, con un enfoque complementario, Lobo (2011) amplió el espectro de aplicación de la biospequelometría al diseñar un sistema comparativo para evaluar los efectos farmacológicos en *Trypanosoma cruzi*, integrando datos obtenidos de experimentos *in vitro*, tanto semi in vivo como in vivo (Ver Figura 3). Esta metodología es integral y destaca la capacidad de la biospequelometría para proporcionar información valiosa sobre la actividad biológica en diferentes niveles de organización, desde el nivel celular hasta el organismo completo (Ver Figura 3).

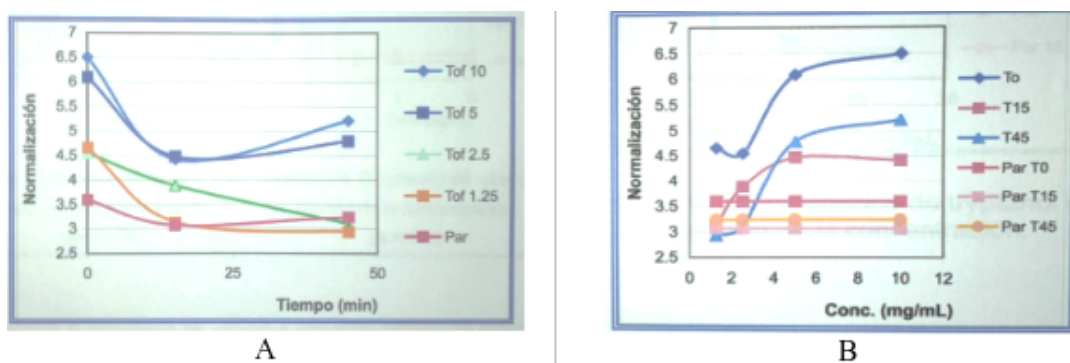


Figura 3: Biospeckle de Tofranil en función del tiempo (A) en función de la concentración (B).
Fuente: Lobo (2011).

Por otro lado, Belandria (2011) aplicó la técnica al estudio de la respuesta bacteriana

a los antibióticos, analizando el comportamiento de *Escherichia coli* K-12 frente a diversos compuestos antimicrobianos. Este trabajo es precursor de las bases para el uso de la bioespequelometría en la investigación de la resistencia bacteriana y el desarrollo de nuevos fármacos (Ver Figura 4). Su aspecto fundamental es el desarrollo de la bioespequelometría, que ha contado con la continua optimización de los métodos de procesamiento de datos.

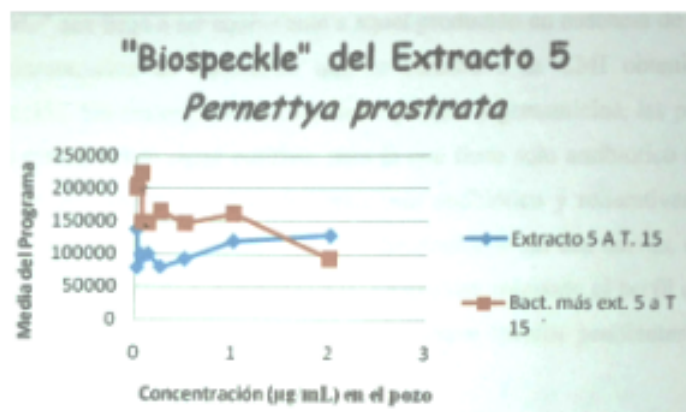


Figura 4: *Biospeckle* del extracto *Pernettya prostrata* a tiempo 15.
Fuente: Belandria (2011).

Estudios como el de García (2011), también emplearon el método de las Diferencias Temporales, implementado en un programa desarrollado por Andrades (2011), para cuantificar la actividad en las muestras analizadas. Este método implicaba la sustracción de fotogramas sucesivos en los videos de *biospeckle* y el cálculo de la media de las diferencias, proporcionando una medida de la dinámica temporal en la muestra. Sin embargo, con el tiempo se reconoció la necesidad de explorar métodos de procesamiento alternativos para mejorar la resolución y la especificidad de la técnica (Ver Figura 4).

Estos tres trabajos son pioneros, junto con otros proyectos preliminares que sirvieron para el diseño, construcción y calibración del nuevo Prototipo de Bioespequelómetro desarrollado exclusiva y completamente en la Sección de Biotecnología del IIFFB-ULA, desarrollado por Grassi et al. (2022). El Proyecto de referencia es el denominado “Producto y Proceso para medir el efecto de Antibióticos sobre Microorganismos en un tiempo corto y utilizando *Biospeckle*” (2012-2014) para el desarrollo de este Prototipo de Bioespequelómetro (Proyecto N° 2012-001862 de FONACIT-MPPCTII, con la Profesora Hilda Cristina Grassi como responsable). El desarrollo de un prototipo de Bioespequelómetro, en el marco de un proyecto de innovación (FONACIT-MPPCTII 2012-2014), representó un paso crucial hacia la estandarización y la accesibilidad de la bioespequelometría en el país. Este prototipo, diseñado y construido por la Sección de Biotecnología del IIFFB-ULA, proporcionó una plataforma experimental controlada y reproducible, lo que facilitó la aplicación de la técnica en diversos contextos de investigación y docencia (Ver Figura 5).

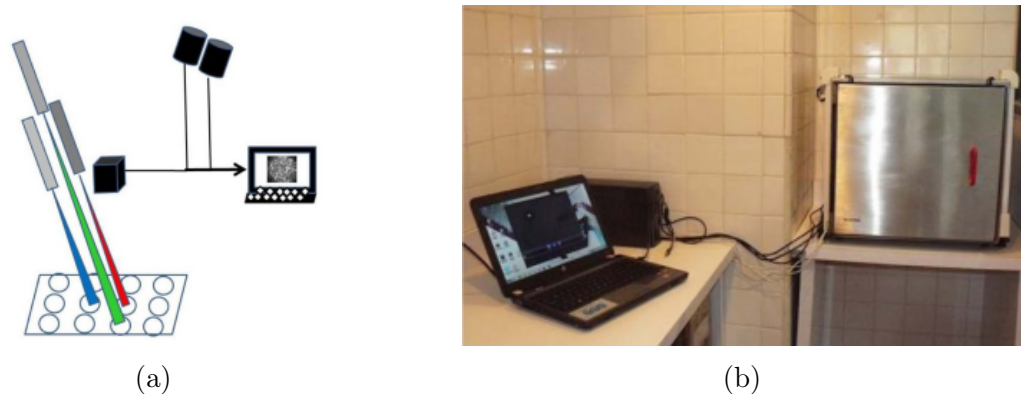


Figura 5: Representación gráfica del prototipo (a). Fotografía del biospequelometro (b), computadora y UPS.

Fuente: Grassi et al. (2022).

Hay que decir también que trabajos como el de Díaz y Gallego (2013), introdujeron el método de comparación con base constante, lo que demostró ser más eficaz para resaltar las variaciones sutiles en la actividad de las muestras. Esta evolución en los métodos de procesamiento de datos refleja un compromiso continuo con la mejora de la precisión y la fiabilidad de la biospequelometría.

En esta misma línea, las contribuciones de Méndez (2013) y Abche (2015) marcaron un hito importante en el desarrollo de la biospequelometría al introducir enfoques más avanzados para el procesamiento de imágenes. Méndez (2013) propuso el método óptico de Imágenes de Diferencias Acumuladas de Base Variable (IDABV), el cual se fundamenta en los principios del flujo óptico para analizar el movimiento en las imágenes de *biospeckle*. Este método demostró ser más eficaz para extraer información relevante sobre la dinámica de las muestras, en comparación con los métodos de procesamiento más simples. De otra parte, Abche (2015) aplicó el método IDABV para hacer reprocesamiento de los datos obtenidos por Belandria (2011), confirmando así su superioridad para detectar los efectos de los antibióticos sobre las células bacterianas. Estos avances en el procesamiento de imágenes subrayan la importancia de adaptar las herramientas metodológicas a las características específicas de los datos de *biospeckle*, con el objetivo de optimizar la extracción de información y mejorar en la interpretación de los resultados.

Un papel fundamental en la optimización del uso del prototipo desempeñó Moreno (2015), evaluando el impacto de diferentes variables experimentales, como la cámara, la resolución y el aumento, en los resultados obtenidos. Además, Moreno (2015) desarrolló una metodología de “Antibiograma por *Biospeckle*”, que permite la rápida evaluación de la susceptibilidad bacteriana a los antibióticos. En este trabajo también se destaca la importancia de la estandarización de los procedimientos experimentales y la validación de los

parámetros de medición para garantizar la fiabilidad y la comparabilidad de los resultados de bioespequelometría. La versatilidad de la bioespequelometría demuestra en su aplicación una amplia gama de sistemas, que van desde microorganismos hasta materiales complejos como el petróleo y extractos de algas.

En tanto que, Muñoz (2015) investigó la aplicación de esta técnica para el análisis de muestras urinarias de individuos con infecciones por esta vía, lo que permitió el surgimiento de métodos rápidos y no invasivos para identificar patógenos. Por lo tanto, se puede afirmar capacidad de afirmar que el *biospeckle* fue capaz de detectar susceptibilidad antimicrobiana. De esta manera se afirma que la bioespequelometría ha demostrado tener un alto potencial para diagnosticar y monitorear enfermedades en el campo de las aplicaciones biomédicas.

Arrieche (2016) aplicó dos métodos más; estos son el método directo e indirecto o mejorado para el procesamiento de imágenes de *Bioespeckle* a ensayos con *Trypanosoma cruzi* en viales de cultivo profundo, donde obtuvo que el método directo no arroja resultados coherentes, mientras que la aplicación del método IDABV con las herramientas adicionales de análisis de *Bioespeckle* permitió obtener buenos resultados en igualdad de condiciones de las muestras, y a su vez, permitió poder hacer el seguimiento a parásitos en cultivo. Así mismo, R. Contreras (2016) encontró que la aplicación del método mejorado de procesamiento de imágenes de *Bioespeckle*, permite hacer la comparación del efecto de fármacos sobre *Trypanosoma cruzi*.

El estudio de Grassi et al. (2016) reunió la información de *Bioespeckle* de *Trypanosoma cruzi* y en él compararon tres métodos de procesamiento de imágenes, logrando determinar un sistema adecuado para estudiar el efecto del Benznidazol sobre este parásito, pudiendo describir así un efecto inmediato y otro tardío. Por otra parte, Ansari et al. (2016) dan a conocer información sobre la aplicación del método de imágenes de historial de movimiento (MHI), con esa información se demuestra que los resultados obtenidos resaltan la ventaja del análisis MHI sobre los métodos tradicionales cualitativos basados en la intensidad de la imagen, y demuestran el potencial de medir la actividad de los parásitos mediante el análisis dinámico de *speckle* láser.

Es relevante destacar el estudio de E. Ramírez et al. (2017), quienes comprobaron que la técnica de procesamiento de imágenes digitales adoptada es la adecuada para monitorear la motilidad y los cambios morfológicos en la población bacteriana a lo largo del tiempo, pues esto resulta muy útil para detectar y distinguir una acción farmacológica a corto plazo sobre los parásitos. Luego vemos en Rodríguez (2018) y J. Molina (2018), quienes aplicaron la bioespequelometría al análisis de extractos de algas, que detectaron fenómenos de fotosensibilidad y fotoactivación. Estos trabajos continúan demostrando la utilidad de la técnica en la investigación de productos naturales y sus propiedades bioactivas.

A. Contreras (2018) y Rey (2018) retomando los resultados de Belandria (2011), optan por aplicar la metodología diseñada por Grassi et al. (2019) en la cual emplearon los métodos de

Selección ROI, Diferencias Generalizadas, Análisis Exploratorio de Datos (Regresión lineal, Normalidad, Homocedasticidad, Independencia) y ARIMA. Así mismo, García (2018) aplicó este mismo diseño experimental a las muestras de orina de pacientes del trabajo de Muñoz (2015), como nueva prueba de la fiabilidad del método. En cuanto al estudio de Grassi et al. (2019), estos aplicaron también técnicas de análisis digital de imágenes a videos obtenidos por Bioespequelometría de muestras control de laboratorio, con el objetivo de demostrar el efecto de la Ciprofloxacina sobre de *Escherichia coli* K-12. Esto permitió proponer la posibilidad de hacer un antibiograma rápido.

Ahora bien, O. Molina (2020) desarrolló un algoritmo para distinguir las dimensiones de microorganismos por la técnica *bioespeckle* láser y por medio de este concluyó que la forma de los microorganismos puede distinguirse por el área de las semi elipses en la tendencia espacial, siendo el coeficiente de variación mayor para parásitos que para bacterias y por el movimiento en la tendencia temporal, mientras que se constata que la relación del coeficiente de variación es mayor para bacterias que para parásitos, debido al mayor movimiento de las primeras frente a las segundas.

En el caso del estudio de Ansari et al. (2021), en este se demostró que el medicamento Epirubicina actúa muy rápido a distintas concentraciones, lo que podría estar vinculado con su efecto inmediato en la membrana de los parásitos de *Trypanosoma cruzi*. Lo importante en este caso fue la comprobación de la metodología a través del procesamiento digital, el cual da fe de ser una prueba rápida y no invasiva.

L. Ramírez (2021) realizó un estudio de la acción del antiinflamatorio enzimático bromelina y su fracción antitumoral en sus formas solubles y cristalizadas usando el prototipo de bioespequelómetro, donde logró detectar diferencias en la estructura del antiinflamatorio y del antitumoral en sus 2 formulaciones, cristal y soluble. Además de los avances en el procesamiento de datos y el análisis estadístico, la bioespequelometría también se ha beneficiado de la exploración de diferentes configuraciones experimentales y parámetros de medición como veremos a propósito de los siguientes trabajos.

J. Rivas (2022) utilizó la técnica para estudiar las interacciones entre formulaciones farmacéuticas biocompatibles y fracciones derivadas del tratamiento del petróleo, revelando información valiosa sobre la movilidad molecular y macromolecular en estos sistemas. De igual manera investigó el efecto de utilizar láseres de diferentes longitudes de onda (azul, verde y rojo) en el análisis de muestras de petróleo, lo que demuestra el interés por optimizar la técnica para aplicaciones específicas. Se debe acotar que la cuidadosa selección de los parámetros experimentales, como la longitud de onda de la luz láser, la configuración óptica y los parámetros de adquisición de imágenes, es fundamental para obtener resultados precisos y reproducibles. Este estudio destaca la capacidad de la bioespequelometría para proporcionar información relevante en campos como la ingeniería química y la ciencia de los materiales.

L. Rivas (2022) hizo una evaluación del efecto de antibióticos en muestras clínicas de orina a través de bioespequelometría láser, usando modelos estadísticos y series de tiempo obteniendo como resultado que el modelo ARMA (1,0,0) se sugiere como el adecuado para ajustarse a las muestras positivas para el efecto del antibiótico. Estos resultados pueden estar indicando que una comparación directa del antibiótico con el “control agua” mejora la exactitud de los resultados del ARMA y el dendograma.

Por su parte, Rojas (2022) efectuó una evaluación de la actividad de muestras clínicas de orina, analizadas con bioespequelometría mediante el diagnóstico estadístico obteniendo que la mayoría de muestras mostraron comportamiento no lineal entre los residuales y los ajustados. De esta manera se comprobó que la forma funcional de la regresión es apropiada, y el método de diagnóstico estadístico brinda ayuda para la detección de ciertos errores relacionados con el montaje de cada muestra.

Como se puede observar, la evolución de la bioespequelometría se ha caracterizado por la adopción de una variedad de métodos de análisis estadístico, que reflejan la creciente sofisticación en el tratamiento de los datos. Desde los análisis descriptivos iniciales hasta la implementación de modelos estadísticos avanzados, como los modelos de series de tiempo de clase ARIMA y ARMA utilizados por Grassi et al. (2019) y L. Rivas (2022) respectivamente, se ha buscado extraer la máxima información de los datos y realizar inferencias precisas y confiables. La selección adecuada del modelo estadístico y la validación de sus supuestos son esenciales para garantizar la robustez y la validez de los resultados de bioespequelometría.

Zambrano (2023) hizo una determinación de *biospeckle* en colonias de microorganismos, demostrando ser un excelente método para la variabilidad, confiabilidad y regularidad de las colonias, teniendo como criterio de inclusión un margen de error de un 10 % que se muestra cónsono con las estimaciones preliminares. En balance, la colaboración interdisciplinaria ha desempeñado un papel crucial en el desarrollo y la aplicación de la bioespequelometría. La asociación entre la Sección de Biotecnología de la Universidad de Los Andes y el Laboratorio de Óptica Aplicada del IVIC-MÉRIDA y el Centro Nacional de Tecnologías Ópticas (CNTO), ha facilitado la transferencia de conocimientos y la combinación de experiencia en diferentes áreas, impulsando la innovación en la técnica y su aplicación a nuevos problemas de investigación. Estas colaboraciones subrayan la importancia de la interacción entre investigadores de diferentes disciplinas para maximizar el potencial de la bioespequelometría y abordar desafíos científicos complejos.

Conclusiones

En conclusión, la bioespequelometría ha experimentado una notable evolución a lo largo de los años, impulsada por los avances en la metodología, la tecnología y el análisis de datos.

Su capacidad para proporcionar información valiosa sobre la dinámica de una amplia variedad de sistemas, la convierte en una herramienta versátil y poderosa para diversas disciplinas científicas. Hay que recordar que es fundamental reconocer la importancia de un diseño experimental cuidadoso, un procesamiento de datos adecuado y un análisis estadístico riguroso para garantizar la validez y la fiabilidad de los resultados obtenidos con esta técnica.

El desarrollo de la biospequelometría ha demostrado ser una herramienta valiosa en diversas áreas, desde la detección de parásitos y la evaluación de la actividad antibiótica hasta el análisis de productos farmacéuticos y muestras de petróleo. La evolución de la técnica, desde los primeros procesamientos fotográficos hasta los análisis digitales en tiempo real y los sofisticados métodos de procesamiento de imágenes, han mejorado significativamente su precisión y aplicabilidad a lo largo del tiempo. Y en última instancia, pero no menos importante, la colaboración interdisciplinaria, como la establecida entre la Sección de Biotecnología de la Universidad de Los Andes, el Laboratorio de Óptica Aplicada del IVIC-MÉRIDA y el Centro Nacional de Tecnologías Ópticas (CNTO), ha sido y será fundamental para impulsar estos avances y explorar nuevas aplicaciones de la biospequelometría.

Recomendaciones

Para futuras investigaciones, se recomienda continuar explorando y optimizando los métodos de procesamiento de imágenes y análisis estadísticos para mejorar aún más la precisión y la robustez de los resultados. Así mismo, se insta seguir fomentando la colaboración interdisciplinaria para aplicar la biospequelometría en nuevos campos y abordar desafíos complejos en la biología, la medicina, la ciencia de los materiales y otras áreas. Además, se debe prestar atención al desarrollo de instrumentación más avanzada y accesible para facilitar la adopción generalizada de esta técnica.

Agradecimiento

Queremos manifestar un profundo y sincero agradecimiento a la Profesora Hilda Cristina Grassi, de la Sección de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Su trabajo ha sido pionero en el campo de la técnica de *Biospeckle* y una fuente inagotable de inspiración, pues ha sentado las bases para la investigación que se presenta en este artículo. Su visión y dedicación han impulsado significativamente el avance de dicha técnica en el campo de la biotecnología farmacológica, abriendo nuevas y prometedoras vías de investigación en el mismo.

Referencias

- Abche, S. (2015). *Utilización del sistema mejorado de procesamiento de imágenes de Bioespeckle en ensayos con bacterias y diferentes antibióticos* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Andrades, F. (2011). *Diseño, Elaboración y Ejecución para el procesamiento de Imágenes de Bioespeckle por el Método Matemático de las Diferencias Temporales* [Resultados no publicados]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Ansari, M., Cabrera, H., Grassi, H., Velásquez, A., Andrades, E., y Mujeeb, A. (2021). Application of biospeckle laser method for drug testing on parasites. En *Advanced studies in experimental and clinical medicine* (pp. 167-180). Taylor & Francis Group. <https://doi.org/10.1201/9781003057451>
- Ansari, M., Grassi, H., Cabrera, H., Velásquez, A., y Andrades, E. (2016). Online fast Biospeckle monitoring of drug action in Trypanosoma cruzi parasites by motion history image. *Lasers Med Sci*, 31(7), 1447-1454. <https://doi.org/10.1007/s10103-016-2008-6>
- Arrieche, A. (2016). *Aplicación del método mejorado de procesamiento de imágenes de Bioespeckle a ensayos con Trypanosoma cruzi en viales de cultivo profundo* [Tesis de Pregrado]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Belandria, O. (2011). *Evaluación comparativa de la quimiotaxis y el antibiograma con el método “Bioespeckle” sobre bacterias* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Contreras, A. (2018). *Evaluación del Efecto de Ampicilina sobre Escherichia coli K-12 HfrH por Bioespecklemetría Láser, usando Programas de Edición de videos y Series de Tiempo* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Contreras, R. (2016). *Aplicación del método mejorado de procesamiento de imágenes de Bioespeckle a ensayos con Trypanosoma cruzi: prueba preliminar de fármacos* [Tesis de Pregrado]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Díaz, K., y Gallego, K. (2013). *Utilización del Sistema Dinámico “Bioespeckle” para Medir el Efecto de Ciprofloxacina sobre Escherichia coli Cepa 322 K-12* [Tesis de Pregrado]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Resultados no publicados.
- Fercher, A., y Briers, J. (1981). Flow visualization by means of single-exposure speckle photography. *Optics communications*, 37(5), 326-330. [https://doi.org/10.1016/0030-4018\(81\)90428-4](https://doi.org/10.1016/0030-4018(81)90428-4)
- García, L. (2011). *Evaluación comparativa del ensayo de fármacos desenergizantes sobre Trypanosoma cruzi usando “Bioespeckle” y otras técnicas de bioensayo* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- García, L. (2018). *Evaluación de la actividad de muestras clínicas de orina en el prototipo de bioespecklemetro láser, usando programas de edición de videos y series de tiempo* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Grassi, H., Andrades, E., Lobo, M., y Andrades, J. (2022). A prototype biospecklemeter for microbiological analysis: a starting point for a potential digital-image laser antibiotic

- susceptibility test. *Laser Phys*, 32(9), 095604. <https://doi.org/10.1088/1555-6611/ac8677>
- Grassi, H., García, L., Lobo, M., Velásquez, A., Andrades, F., Cabrera, H., Andrades, J., y Andrades, E. (2016). Quantitative Laser Bioespeckle Method for the Evaluation of the Activity of *Trypanosoma cruzi* Using VDRL Plates and Digital Analysis. *PLoS Negl Trop Dis*, 10(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005169>
- Grassi, H., Velásquez, A., Belandria, O., Lobo, M., Andrades, J., Cabrera, H., y Andrades, E. (2019). Bioespeckle laser digital image processing for quantitative and statistical evaluation of the activity of ciprofloxacin on *Escherichia coli* K-12. *Laser Phys*, 29, 075603. <https://doi.org/10.1088/1555-6611/ab21d8>
- Lobo, M. (2011). *Estrategias para evaluar la actividad biológica de fármacos comerciales sobre Trypanosoma cruzi* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Méndez, R. (2013). *Aplicaciones Biotecnológicas para Diagnóstico Microbiológico: Modificaciones de Variables del Método de Biospeckle* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Molina, J. (2018). *Bioespequelometría láser fotosensibilidad/fotoactivación y evaluación de las actividades hemoaglutinante y anticoagulante a partir de un extracto acuoso del alga marina verde Ulva fasciata* [Tesis de Pregrado]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Molina, O. (2020). *Desarrollo de un algoritmo para distinguir las dimensiones de microorganismos por la técnica biospeckle láser* [Tesis de Pregrado]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Moreno, N. (2015). *Variables que Inciden en la Detección de la Actividad de Bacterias por Biospeckle* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Muñoz, O. (2015). *Uso del prototipo de Biospeckle Para evaluar la actividad bacteriana en muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario en el área de emergencia adultos del IAHULA en el periodo comprendido entre mayo/junio 2015* [Tesis de Especialización]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Pajuelo, M., Baldwin, G., Rabal, H., Cap, N., Arizaga, R., y Trivi, M. (2003). Bio-speckle assessment of bruising in fruits. *Optics and Lasers in Engineering*, 40(1-2), 13-24. [https://doi.org/10.1016/S0143-8166\(02\)00063-5](https://doi.org/10.1016/S0143-8166(02)00063-5)
- Ramírez, E., Cabrera, H., Grassi, H., Andrades, E., Otero, I., Rodríguez, D., y Darías, J. (2017). Digital imaging information technology for biospeckle activity assessment relative to bacteria and parasites. *Lasers Med Sci*, 32(6), 1375-1386. <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2256-0>
- Ramírez, L. (2021). *Estudio de la acción del antiinflamatorio enzimático bromelina y su fracción antitumoral en sus formas solubles y cristalizadas usando el prototipo de bioespequelómetro* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Rey, K. (2018). *Evaluación del Efecto de Gentamicina sobre Escherichia coli por Bioespequelometría Láser, usando Programas de Edición de videos y Series de Tiempo* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

- Rivas, J. (2022). *Estudio de formulaciones farmacéuticas biocompatibles de petróleo mediante el uso del prototipo de bioespequelometría* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Rivas, L. (2022). *Evaluación del efecto de antibióticos en muestras clínicas de orina, a través de bioespequelometría láser, usando modelos estadísticos y series de tiempo* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Rodríguez, D. (2018). *Bioespequelometría laser, foto-sensibilidad, foto-activación y evaluación de actividades biológicas de extractos de algas marinas (Padina pavonica, Udotea flabellum, Anadyomene sp, Chlorodesmis fastigiata, Cladophora sp) colectadas en el parque nacional Morrocoy* [Tesis de Pregrado]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Rojas, E. (2022). *Evaluación de la actividad de muestras clínicas de orina, analizadas con bioespequelometría mediante el diagnóstico estadístico* [Tesis de Maestría]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Zambrano, M. (2023). *Determinación de Biospeckle en colonias de microorganismos* [Tesis de Pregrado]. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.