

Recuperación y actualización de un espectrofotómetro automático para la medición de parámetros químicos de la sangre.

A. Guerra¹, N. León², I. Valdivieso³, M. Yapur³
Facultad de Ingeniería en Electricidad y Computación
Escuela Superior Politécnica del Litoral
Campus Gustavo Galindo, Km. 30.5 Vía Perimetral
Apartado 09-01-5863, Guayaquil-Ecuador

myapur@fiec.espol.edu.ec, aguerra@fiec.espol.edu.ec, nleon@hotmail.com,
ilde@valdivieso.zzn.com,

Resumen

Un espectrofotómetro es un instrumento usado en los laboratorios clínicos para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones. Se lo usa principalmente en el análisis de sustancias contenidas en líquidos biológicos; también ayuda a la cuantificación de sustancias y microorganismos. Este instrumento tiene la capacidad de proyectar un haz de luz monocromática a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra. Esto le permite al operador realizar dos funciones, primero, dar información sobre la naturaleza de la sustancia en la muestra y segundo, indicar directamente qué cantidad de la sustancia que nos interesa, está presente en la muestra. En este trabajo se ha recuperado y actualizado un analizador automático de química clínica desarrollado por Hitachi cuyo modelo es el 704 que básicamente es un espectrofotómetro, el cual fue uno de los primeros equipos de una serie, desarrollados con el fin de brindar precisión, rapidez y facilitar el trabajo de análisis bioquímico.

Palabras Claves: Absorbancia, espectrofotómetro, espectro de absorción, análisis bioquímico.

Abstract

A spectrophotometer is an instrument used in the clinics laboratories to measure, in function of the wavelengths the relationship among values of oneself magnitude relative photometric to two faces of radiations. In the chemistry laboratories it uses it to him mainly in the analysis of substances contained in biological liquids, also help to the quantification of substances and microorganisms. This instrument has the capacity to project a sheaf of monochrome light through a sample and to measure the quantity of light that is absorbed by this sample. This allows to the operator to carry out two functions, first, to give information on the nature of the substance in the sample and second, to indicate directly what a quantity of the substance that interests us, is present in the sample. In this work it has been recovered and update an automatic analyzer of clinical chemistry developed by Hitachi whose model is the 704, that basically is a spectrophotometer, which was one of the first teams of a series, developed with the purpose of offering precision, speed and to facilitate the work of analysis biochemical.

Keywords: Absorbance, spectrophotometer, absorption spectrum, analysis biochemical.

1. Introducción.

El analizador Hitachi 704 fue usado en la década de los 80, en muchos laboratorios de análisis clínico, más con el paso del tiempo y el avance de la tecnología, este equipo ha quedado en desuso.

El objetivo del presente trabajo fue la reparación y actualización de un equipo que dejó de operar hace unos quince años, y para ello se aplicaron los conocimientos adquiridos en el programa de graduación de electrónica médica, trabajando especialmente en las áreas de ingreso de información, que se lo hacía a través de un teclado diseñado exclusivamente con funciones específicas,

el cual ya no existe razón por lo que se construyó una tarjeta con iguales características a la original.

El almacenamiento de datos, que se lo realizaba en un disco de 5.25" a través de un floppy disk, se migró a un floppy de 3.5". Se modernizó el cableado de bus de datos.

2. Principios químicos.

El principio en el que se basa la operación del equipo es el de la absorción de la energía radiante por una solución, que puede describirse por medio de una gráfica de absorbancia en función de la longitud de onda. Esta gráfica se denomina espectro de absorción (figura 1).

El espectro de absorción refleja la suma de las transiciones características de energía de una molécula en cada longitud de onda. Es importante tener presente que la absorbancia no es una cantidad directamente cuantificable, sino que puede ser obtenida por cálculo matemático de los datos de transmitancia. Los valores de absorbancia no tienen unidades.

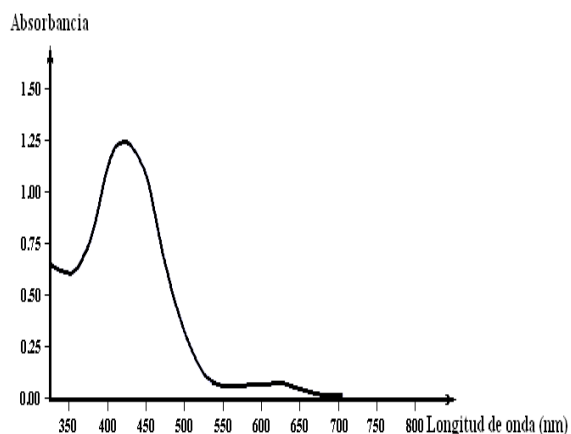


Figura 1. Ejemplo de espectro de absorbancia en función de la longitud de onda

La ley de Beer establece que la concentración de una sustancia es directamente proporcional a la cantidad de energía radiante absorbida. Esta ley es la base del análisis cuantitativo para la fotometría de absorción.

Un espectrofotómetro tiene la capacidad de manejar un haz de radiación electromagnética (REM)[1], comúnmente denominado “luz”, separándolo, con el fin de facilitar la identificación, calificación y cuantificación de su energía. Su eficiencia, resolución, sensibilidad y rango espectral, dependerán de las variables de diseño y de la selección de los componentes ópticos que lo conforman.

Las áreas del espectro electromagnético utilizadas generalmente en el laboratorio clínico son: el ultravioleta (UV) y las regiones visibles. La región visible está definida como la región entre 380 y 780 nm, mientras que el espectro ultravioleta definido para el laboratorio de química clínica cae entre 180 y 380 nm. La luz solar o la luz emitida por un filamento de tungsteno es una mezcla de energía radiante de diferentes longitudes de onda que el ojo reconoce como “blanco”. La desintegración de la región visible en color absorbido y color reflejado se ilustra en la tabla 1.

El color que las sustancias adquieren se debe a que éstas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y, sólo vemos aquellas longitudes de onda que no fueron absorbidas.

Tabla1: Color absorbido y color observado o complementario para diversas longitudes de onda del espectro visible

Longitud de la absorción	Color absorbido	Color observado o complementario
380 – 420	Violeta	Amarillo – Verdoso
420 – 440	Azul – Violeta	Amarillo
440 – 470	Azul	Naranja
470 – 500	Verde – Azulado	Rojo
500 – 520	Verde	Púrpura
520 – 550	Verde – Amarillento	Violeta
550 – 580	Amarillo	Azul – Violeta
580 – 620	Naranja	Azul
620 – 680	Rojo	Verde – Azulado
680 – 780	Púrpura	Verde

Si una solución absorbe energía radiante (luz) entre 440 y 470 nm (azul), transmitirá todos los demás colores y aparecerá naranja al ojo. Por lo tanto el naranja es el color complementario del color azul. Si se enfoca la luz blanca sobre una solución que absorbe energía entre 500 y 520 nm (verde), la luz transmitida y por consiguiente la solución aparecerá color púrpura (azul y rojo). Si se dirige una luz roja sobre una solución de color rojo, la luz roja será transmitida porque esta solución no puede absorber la luz roja. Por otra parte, si la luz verde se hace incidir sobre una solución de color rojo, no hay luz transmitida, puesto que la solución absorbe toda la luz excepto la roja. El ojo humano responde a la energía radiante entre 380 y 780 nm, pero los instrumentos del laboratorio permiten mediciones del espectro tanto de longitudes de onda corta como la UV y longitudes de onda larga, como el infrarrojo.

3. Componentes químicos de la sangre.

Para proveer datos clínicos exactos y precisos, el laboratorio de química clínica debe interesarse en los componentes y métodos analíticos utilizados para obtener tales datos. La familiaridad con la pureza de las sustancias químicas, solventes y agua con grado de reactivo es esencial. Además, la selección y el uso del equipo analítico apropiado y las prácticas de seguridad en el trabajo, son de gran importancia.

Generalmente se presenta en la sangre un gran número de sustancias químicas, cada una de ellas se encuentra en estado de equilibrio dinámico entre las células de los tejidos y los líquidos que las rodean.

Como todas, estas sustancias, entran y salen del torrente sanguíneo; su concentración indica en cualquier momento la diferencia entre la producción

total y la utilización total de las mismas. Los procesos fisiológicos pueden producir alteración de los estados dinámicos de equilibrio, obteniéndose entonces modificaciones de la concentración de diversos componentes químicos de la sangre en el transcurso del tiempo de un mismo día o siguientes. Por tanto, el objeto es tener una idea de los trastornos y enfermedades en que se encuentran alteraciones de importancia de algunas sustancias muy comunes en el cuerpo. A continuación se enlista las pruebas que sufren cambios significativos de concentración con la ingesta de alimentos [2]. Ácido úrico, alanina aminotransferasa, albúmina, amilasa, aspartato aminotransferasa, bilirrubina total, calcio, total, colesterol, HDL colesterol, Cloro, Creatinina, Ferritina, Fosfatasa alcalina, Fosfato, Glucosa, en ayunas, Hierro, Lactato dehidrogenasa, Magnesio, Osmolalidad, Potasio, Proteínas totales, Sodio, Triglicéridos, Tirotrópica (TSH), Tiroxina, Urea (BUN).

4. Explicación del equipo.

El equipo es un analizador que contiene un carrusel para muestras, un carrusel para reactivos y un disco de reacción con 48 cubetas reusables. La figura 2, muestra una imagen del equipo.

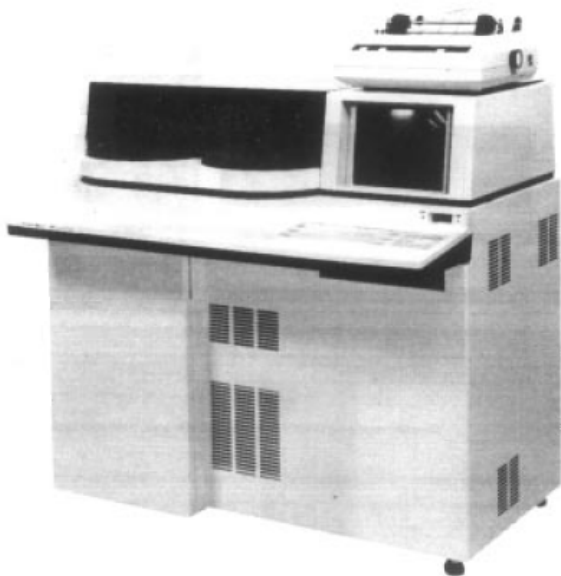


Figura 2. Analizador automático de bioquímica clínica Hitachi 704.

El equipo está conformado por un CPU, una unidad de control, una unidad de relevadores de estado sólido, un controlador de temperatura, un amplificador logarítmico, un detector de fallas de voltaje y una unidad de poder.

El equipo modelo 704 de Hitachi, se trata de un analizador de procesos químicos o reacciones químicas que se producen en un compuesto; se ha destinado para el análisis químico de la sangre por ser muy preciso en comparación con otros analizadores.

Se divide en una unidad de operación que se encarga de las condiciones de entrada y salida analíticas y una unidad de control que maneja cada función requerida.

La figura 3 presenta un bosquejo de una vista exterior del equipo y la figura 4, ilustra las partes funcionales; aquí se observa que en la unidad de operación se tiene:

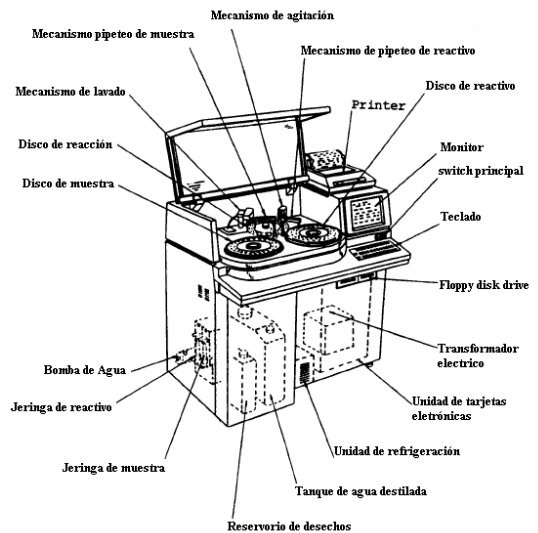


Figura 3. Vista exterior y sus partes

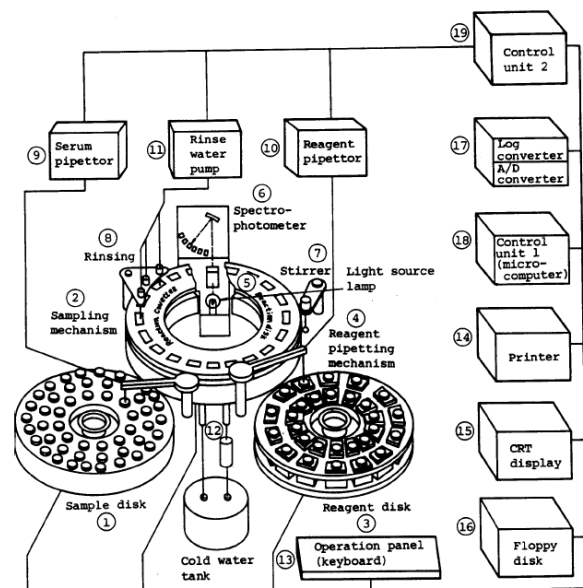


Figura4. Partes funcionales

1) Un disco de muestras, con capacidad de colocar 40 muestras de rutina normal, 30 soluciones de estándar

para calibración, 6 soluciones de control, 10 muestras de emergencia y una solución de lavado.

2) Mecanismo de muestreo, que es necesario para aspirar un volumen determinado de muestra desde el disco de muestra, llevarlo y depositarlo en determinada cubeta en el disco de reacción.

3) El disco de reactivos, que tiene la capacidad de colocar alrededor de 20 pares de reactivos; estos por lo general vienen en pares denominados reactivo uno y reactivo dos.

4) Mecanismo de pipeteo de reactivo, que se encarga de llevar un volumen determinado de reactivo desde el disco de reactivos hasta la cubeta correspondiente en el disco de reacción.

5) Disco de reacción, es en el cual están colocadas alrededor de 48 cubetas, en donde sucede la reacción de la muestra al entrar en contacto con el reactivo.

6) Espectrofotómetro, es el lugar donde se producen las mediciones fotométricas tanto de agua como de soluciones en reacción cuando la cubeta de reacción atraviesa el eje óptico. El fotómetro de este equipo es capaz de medir 11 longitudes de onda, 340, 376, 415, 450, 480, 505, 570, 600, 660 y 700 nanómetros.

7) Un agitador, encargado de agitar o mezclar las soluciones de reacción dentro de la cubeta.

8) Estación de lavado, que es la encargada de aspirar las soluciones de reacción y lavar las cubetas antes y después de cada medición; también debe colocar agua destilada para la medición del blanco de agua.

9) Pipeta de muestra, capaz de aspirar e inyectar muestra con mucha precisión desde 5 a 20 uL.

10) Pipeta de reactivo, capaz de aspirar e inyectar reactivo desde 50 a 500 uL.

11) Bomba de agua, para el suministro de agua de todo el sistema y en especial para el lavado de las cubetas de reacción, tiene una velocidad de flujo de un litro por minuto.

12) Baño de incubación, que se encarga de mantener la temperatura de las cubetas de reacción a 37 grados centígrados. El agua de este baño debe estar en constante circulación.

13) Un teclado, dedicado para el ingreso de texto, utiliza 5 teclas de función, 30 teclas para selecciones de test, 6 teclas para selección de trabajo y las teclas para números y desplazamiento en el menú.

14) Una impresora, para la impresión de datos analíticos

15) Un monitor, monocromático de doce pulgadas con la capacidad de presentar 25 líneas de 40 caracteres. Permite mostrar los resultados de las pruebas procesadas.

16) Dos controladores de disco flexible, en uno se almacenan los datos del programa del sistema y parámetros analíticos, y en el segundo se almacena los resultados analíticos.

En la unidad de control se tiene:

17) Convertor logarítmico y convertor digital, el primero convierte la señal del espectrofotómetro en

valores de absorbancia, el segundo convierte la señal que entrega el convertor logarítmico en digital.

18) Unidad de control uno, es la encargada de controlar los procesos de datos y manejar las interfaces del sistema, incluido teclado, monitor, impresora, etc.

19) Unidad de control dos, es la encargada de manejar los mecanismos de la unidad como motores y válvulas solenoides.

Al presionar la tecla de inicio en el panel de control, el disco de reacción, el disco de muestra, el disco de reactivos, los mecanismos de pipeteo de muestra y reactivo son inicializados, con el fin de asegurarse que el instrumento se encuentre en condiciones normales de operación. Luego se lava la cubeta y se mide la absorbancia de la celda con agua, esto se llama blanco de cubeta, por cuatro veces; luego el mecanismo de lavado vacía y lava la cubeta aspirando todo residuo de agua, la celda es movida a la posición de muestreo, entonces la pipeta de muestra rota hasta la muestra, aspira la cantidad correspondiente al análisis que va a realizar para luego moverse al disco de reacción y colocar el contenido en el fondo de la cubeta de reacción. La pipeta de muestra regresa a la su posición de lavado para lavarse interna y externamente. La cubeta con la muestra es llevada a la posición de pipeteo de reactivo donde la pipeta de reactivo toma una determinada cantidad de reactivo y lo coloca dentro de la cubeta, luego es colocada en posición de mezclado, el agitador baja dentro de la cubeta y mezcla el contenido de la muestra con el reactivo, el agitador es llevado a su posición de lavado; cinco minutos más tarde la cubeta con la mezcla es llevada a la posición de dispensado de reactivo nuevamente, donde se le coloca el segundo reactivo. Luego se procede a medir la solución en reacción en ciclos de 20 segundos y al cabo de 10 minutos el proceso ha terminado. La figura 5 muestra esta secuencia, y la figura 6 da la idea del paso de la muestra por el disco de reacción.

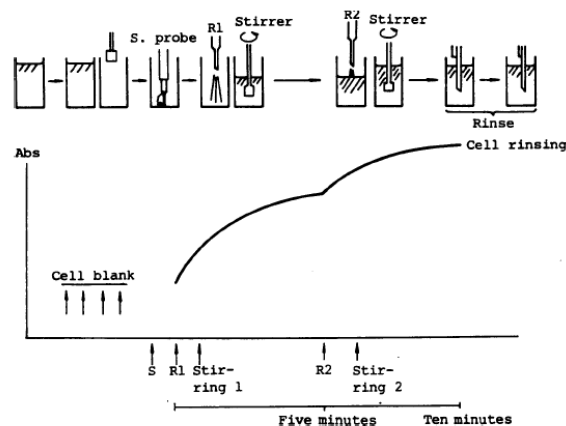


Figura 5. Secuencia analítica

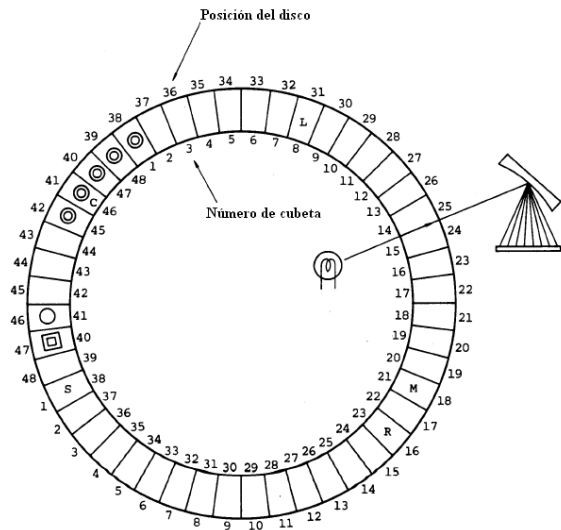


Figura 6. Diagrama fotométrico

5. Reparación y actualización

En la unidad de CPU, se encuentra la tarjeta FSBC, que contiene el chip controlador del disco de 5.25" y en base al cual se trabajó en la actualización a un disco de 3.25". Esta tarjeta es el cerebro del equipo, controla por entero el analizador y también se encarga del proceso de datos.

La figura 7 muestra a los floppy disk de la unidad, los cuales se encontraban inservibles.



Figura 7. Floppy disk de 5 1/4" propios del equipo.

Para adaptar un floppy de 3 1/2" se deben configurar las señales mode select, side, ready y especialmente la index; esto es porque los floppy actuales trabajan con señales en lógica positiva (verdadero en nivel alto) mientras que el equipo trabaja con lógica negativa (verdadero en nivel bajo).

Dependiendo de la marca del fabricante del floppy, se deben configurar éstas señales; así por ejemplo en

el caso de los floppy marca Mitsumi la situación se vuelve muy flexible ya que solamente se debe jugar con las señales ready y mode select y el floppy trabaja con lógica negativa. La figura 8 nos muestra lo que se debe hacer.



VISTA INFERIOR FLOPPY 3.5"

Figura 8. Como obtener la señal mode select y ready

Se cortan las pistas de los pines 4 y 34 del conector, luego se une el pin 34 con el pin 1 del switch 2 y el pin 4 con el pin 3 del switch.

En el caso de los floppy cuyo controlador es el chip FDC 82077 de Intel, la situación se resuelve cambiando la configuración de la señal invert, que pone las señales en un nivel lógico negativo. Por tanto es importante asegurarse con que lógica trabaja el floppy en su configuración de fábrica y las señales del controlador del mismo. Si el controlador no permite realizar cambios en la lógica, entonces se debe cambiar la lógica usando inversores o puertas lógicas.

Por otra parte, el cableado del equipo se encontraba en malas condiciones, se cambiaron los cables en su totalidad, los mismos que se ordenó y agrupó de manera funcional con amarras y soportes plásticos, con el fin de dar facilidad para los mantenimientos preventivos. La figura 9 muestra como quedó el equipo una vez superado el problema.

El equipo cuenta con un teclado, el mismo que es dedicado a cumplir ciertas tareas específicas tales como ingreso de datos (identificación del paciente, ingreso de peticiones, etc.). Se copió la tarjeta madre del teclado y se montaron las teclas originales.

Por otra parte en el monitor, el circuito integrado encargado del barrido vertical HA1166X y los capacitores de esta sección fue necesario reemplazarlos y eliminar algunas sueldas frías.



Figura 9: Cableado totalmente nuevo y bien estructurado.

6. Conclusiones.

En nuestro medio y en toda América, existen muchos equipos de características similares al Hitachi 704 que dejaron de operar por cambio de tecnología en el hardware de sus computadoras; habilitando esta parte inservible u obsoleta en la actualidad, el equipo vuelve a funcionar en las mismas condiciones de operación y con la misma operatividad que tuvo en sus inicios. Un equipo como éstos es muy propicio para trabajar en un laboratorio de análisis microbiológico, disminuyendo el tiempo de realización de las diferentes determinaciones y con una alta confiabilidad en los resultados. Por tanto es importante el reciclaje y reconstrucción de este tipo de equipos con el fin de que sigan aportando a los laboratorios a precios muy cómodos.

7. Referencias.

- [1] Bishop ML, Duben-Engelkirk JL, Editorial Fody EP: Clinical chemistry: principles, procedures, correlations, segunda edición. Philadelphia, 1992, Lippincott.
- Kolmer John A, Editorial Interamericana: Diagnostico clínico por los análisis de laboratorio, tercera edición. Mexico D.F., 1994.
- [2] National Committee for Clinical Laboratory Standards: Approved standard procedures for the collection of diagnostic blood specimens by skin puncture. Villanova, Pa, 1982.