



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

## **FACULTAD DE INGENIERIA EN ELECTRICIDAD Y COMPUTACIÓN**

**“Recuperación y Actualización de un Espectrofotómetro Automático para la medición de Parámetros Químicos de La Sangre”**

### **TOPICO ESPECIAL DE GRADUACION EN:**

#### **ELECTRONICA MÉDICA**

**ALUMNOS:**

**ALEX GUERRA TORRES**

**NESTOR LEON PRUSS**

**ILDEFONSO VALDIVIESO OJEDA**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**AÑO: 2009**

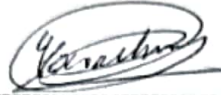
## AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Miguel Yapur, director de t3pico, por su ayuda y colaboraci3n para la realizaci3n de este trabajo.

A la Dra. Mar3a Antonieta Baquerizo quien desinteresadamente dono el equipo para realizar el presente trabajo.

Al Dr. Walter Arriaga, quien nos facilit3 muestras y reactivos para los an3lisis correspondientes.

TRIBUNAL DE GRADO



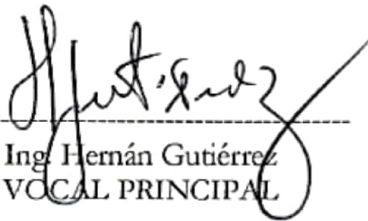
---

Ing. Holger Cevallos  
SUB-DECANO DE FIEC  
PRESIDENTE



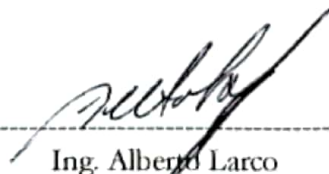
---

Ing. Miguel Yapur A.  
DIRECTOR DE TOPICO



---

Ing. Hernán Gutiérrez  
VOCAL PRINCIPAL



---

Ing. Alberto Larco  
VOCAL PRINCIPAL

## DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este trabajo de tópico de grado, nos corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL”.

Néstor León Pruss



Álex Guerra Torres

Ildelfonso Valdivieso Ojeda

## RESUMEN

### RECUPERACIÓN Y ACTUALIZACIÓN DE UN ESPECTROFOTÓMETRO AUTOMÁTICO PARA LA MEDICIÓN DE PARÁMETROS QUÍMICOS DE LA SANGRE

Un espectrofotómetro es un instrumento usado en los laboratorios microbiológicos, para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones. En los laboratorios de química 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:

- Dar información sobre la naturaleza de la sustancia en la muestra.
- Indicar directamente qué cantidad de la sustancia que nos interesa, está presente en la muestra.

Por esta razón, el equipo que se ha elegido, es el analizador automático de química clínica desarrollado por Hitachi cuyo modelo es el 704, siendo uno de los primeros equipos de una serie, desarrollados con el fin de brindar precisión, rapidez y facilitar el trabajo de análisis bioquímico.

Fue usado 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 es recuperar y actualizar un equipo que dejó de operar hace unos quince años, y para ello se aplicarán los conocimientos adquiridos en el Tópico y la tecnología actual, trabajando especialmente en las áreas de:

1. Ingreso de información, que se lo hacía a través de un teclado diseñado exclusivamente con funciones en particular, el cual ya no existe y por consiguiente se diseñará y construirá otro más moderno.
2. Almacenamiento de datos, que se lo realizaba en un disco de 5.25" a través de un floppy disk, se migrará a un disco duro.
3. Cambio en la salida de datos a través de impresora y monitor, los cuales actualmente no existen en el equipo.
4. Modernizar el cableado de bus de datos.

Finalmente, el equipo una vez operativo, será donado a la ESPOL, como aporte, ya sea para el Laboratorio de Electrónica o para ser usado en el Laboratorio Clínico de la ESPOL.

# TABLA DE CONTENIDO

## CAPITULO 1

### FUNDAMENTOS TEORICOS

<b>1.1 PRINCIPIOS QUÍMICOS .....</b>	<b>1</b>
1.1.1. LEY DE BEER .....	4
1.1.2. TEORÍA DE TRANSMITANCIA Y ABSORBANCIA .....	5
<b>1.2 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....</b>	<b>11</b>
1.2.1 COMPONENTES QUÍMICOS .....	12
1.2.2 OBTENCIÓN DE MUESTRAS .....	12
1.2.3 CIFRAS NORMALES DE QUÍMICA SANGUÍNEA.....	16
<b>1.3 METABOLISMOS CORPORALES.....</b>	<b>22</b>
<b>1.4 EQUIPO BÁSICO DE COLORIMETRÍA .....</b>	<b>29</b>
1.4.1 FUENTE DE LUZ .....	30
1.4.1.1 TIPOS DE LÁMPARAS .....	33
1.4.2 MONOCROMADOR .....	34
1.4.2.1 FILTROS .....	34
1.4.2.2 PRISMA .....	36
1.4.3 CELDA DE ABSORCIÓN .....	36
1.4.4 FOTO DETECTOR.....	37
1.4.5 DISPOSITIVOS DE SALIDA.....	38

## CAPITULO 2

### ANÁLISIS DE LOS DIAGRAMAS DE UN ESPECTROFOTOMETRO AUTOMATIZADO

<b>2.1 DIAGRAMA DE BLOQUES GENERAL.....</b>	<b>39</b>
<b>2.2 DIAGRAMAS DE BLOQUES DE CPU .....</b>	<b>41</b>
<b>2.3 DIAGRAMAS DE UNIDAD DE CONTROL .....</b>	<b>48</b>
<b>2.4 DIAGRAMA DE CONTROL DE TEMPERATURA.....</b>	<b>53</b>

2.5	DIAGRAMA DE AMPLIFICADOR LOGARÍTMICO .....	55
2.6	DETECTOR DE CAÍDAS DE VOLTAJE.....	55
2.7	EXPLICACIÓN DEL SISTEMA .....	59
2.8	DIAGRAMA DE FLUJO HIDRÁULICO .....	68
2.9	DIAGRAMAS ELÉCTRICOS .....	70
2.10	CABLEADO.....	91

### **CAPITULO 3**

#### **MODERNIZACIÓN DEL EQUIPO EN ALMACENAMIENTO Y RECUPERACIÓN DE DATOS**

3.1	ENTRADA DE DATOS DEDICADA .....	93
3.2	SALIDA DE DATOS CONVENCIONAL.....	95
3.2.1	MONITOR, IMPRESORA. ....	95
3.3	ALMACENAMIENTO Y RECUPERACIÓN DE INFORMACIÓN .....	96
3.3.1	CAMBIO DE LA INTERFAZ DE FLOPPY DE 5 ¼" A FLOPPY DE 3 ½". ....	96
3.4	MODERNIZACIÓN DEL CABLEADO DEL BUS DE DATOS .....	100

### **CAPITULO 4**

#### **ANÁLISIS DE SOFTWARE Y PRUEBAS**

4.1	SOFTWARE DE OPERACIÓN .....	102
4.2	PRUEBAS REALIZADAS .....	103

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFIA



## *Capítulo 1*

### ***FUNDAMENTOS TEÓRICOS***

#### **1.1 Principios Químicos**

La espectrofotometría es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones biológicas. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto con otra que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

Todas las sustancias pueden absorber energía radiante; incluso aquellas que parecen transparentes absorben longitudes de onda que pertenecen al espectro visible.

Un espectrofotómetro tiene la capacidad de manejar un haz de radiación electromagnética (REM), 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 1-1.

<b>Tabla 1.1: Color Absorbido y color observado o complementario para diversas longitudes de onda del espectro visible</b>		
<b>Longitud de la absorción máxima (nm)</b>	<b>Color absorbido</b>	<b>Color observado o complementario</b>
380 – 420	Violeta	Amarillo – Verdoso
420 – 440	Azul – Violeta	Amarillo
440 – 470	Azul	Naranja
470 – 500	Verde – Azuloso	Rojo
500 – 520	Verde	Púrpura
520 – 550	Verde – Amarillento	Violeta
550 – 580	Amarillo	Azul – Violeta
580 – 620	Naranja	Azul
620 – 680	Rojo	Verde – Azuloso
680 – 780	Púrpura	Verde

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.

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.

El espectrofotómetro tiene la capacidad de proyectar un haz de luz monocromática (de una longitud de onda particular) a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra. Esto le permite al experimentador:

**Primero**, obtener información sobre la naturaleza de la sustancia en la muestra. Esto podemos lograrlo midiendo la absorbancia (Abs) a distintas longitudes de onda ( $\lambda$ ) y graficar estos valores en función de la longitud de onda, formando un espectrograma. Como cada sustancia tiene propiedades espectrales únicas, distintas sustancias producen distintos espectrogramas. Esto se debe a que cada sustancia tiene un arreglo de átomos tridimensional diferente, que hace que cada sustancia tenga características únicas. Al ser expuestos a la luz del espectrofotómetro, algunos electrones de los átomos que forman las moléculas absorben energía entrando a un estado alterado. Al recuperar su estado original, la energía absorbida es emitida en forma de fotones. Esa emisión de fotones es distinta para cada sustancia, generando un patrón particular, que varía con la longitud de onda.

La absorción de la energía radiante por una solución puede describirse por medio de una gráfica de absorbancia en función de la longitud de onda. Esta gráfica se denomina espectro de absorción (figura. 1.1). 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. La relación entre absorbancia y %T (Porcentaje de luz transmitida), se analiza en detalle más adelante.

**La segunda**, saber cuánta cantidad de la sustancia que nos interesa está presente en la muestra.

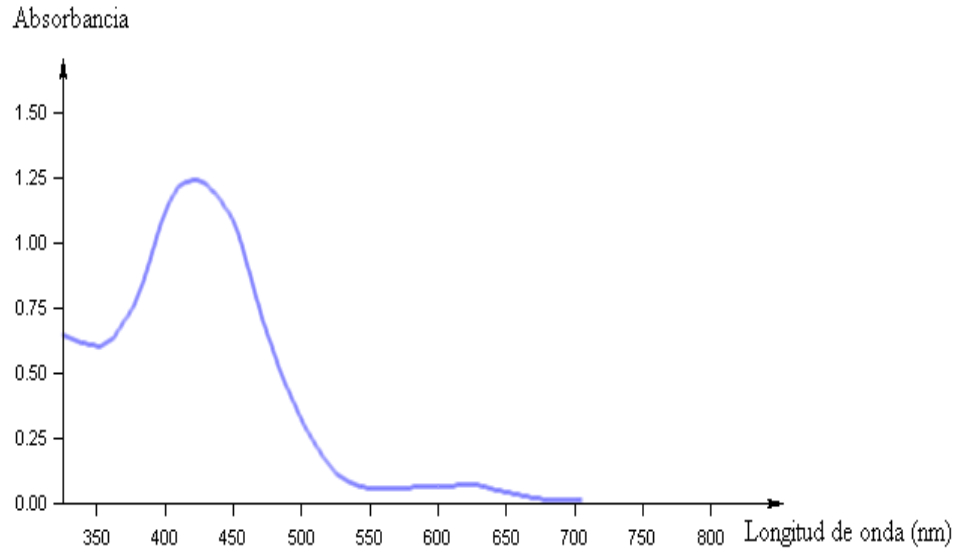


Fig. 1.1: Espectro de Absorbancia Vs Longitud de Onda para la Albumina

### 1.1.1.

**L**

#### ley de Beer

La ley de Beer establece que la concentración de una sustancia es directamente proporcional a la cantidad de energía radiante absorbida o inversamente proporcional al logaritmo de la energía radiante transmitida. Si la concentración de una solución es constante y la longitud del paso de luz que atraviesa una solución se duplica, el efecto sobre la absorbancia es igual a duplicar la concentración, ya que habrá dos veces más moléculas absorbentes presentes en el paso de energía radiante. De este modo la absorbancia también es directamente proporcional a la longitud de la trayectoria que atraviesa la energía radiante a través de la celda.

La relación matemática entre la absorción de energía radiante, la concentración de la solución, y la longitud del paso óptico se demuestra por la ley de Beer:

$$A = K C L$$

A: absorbancia

K: absorptividad molar

C: concentración de la sustancia de interés

L: distancia que viaja la luz a través de la muestra. (Normalmente es de 1 cm)

Esta ecuación forma las bases del análisis cuantitativo por fotometría de absorción. Los valores de absorbancia no tienen unidades. La absorptividad es una constante de proporcionalidad relacionada con la naturaleza química del soluto y tiene unidades que son recíprocas con las de la distancia y concentración.

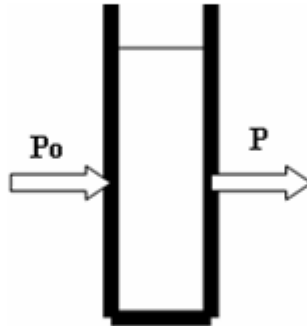
C se expresa en moles por litro y L en centímetros, el símbolo K, llamado absorptividad molar, es una constante para un compuesto dado a una determinada longitud de onda, bajo condiciones específicas de solvente, pH, temperatura, etc., tiene unidades de L/mol.cm. Mientras mayor es la absorptividad molar, mayor es la absorbancia para la misma concentración en términos de masa de dos compuestos. Por lo tanto, en la selección de un cromógeno para métodos espectrofotométricos, se debe usar un cromógeno con alta absorptividad molar, el cual impartirá mayor sensibilidad a la medición.

### 1.1.2.

T

#### Teoría de Transmitancia y Absorbancia

La cantidad de luz absorbida por una cantidad de sustancia depende del número de moléculas de ésta sustancia. Considérese un haz de energía radiante con una intensidad inicial,  $P_0$ , que incide sobre una celda cuadrada y pasa a través de ella (cuyos lados son perpendiculares al haz). La celda contiene una solución de un compuesto que absorbe energía radiante de una cierta longitud de onda (figura. 1.2). La intensidad de la energía radiante transmitida,  $P$ , será menor que  $P_0$ . Parte de la energía radiante será reflejada por la superficie de la celda o absorbida por la pared de la celda o el solvente.



**FIG. 1.2: Transmitancia de energía radiante a través de una cubeta**

Por lo tanto estos factores deben ser eliminados si se desea considerar sólo la absorción del compuesto de interés. Esto se hace usando un blanco o solución de referencia que contiene todo menos el compuesto a ser determinado. La cantidad de luz que pasa a través de la solución “blanco” se establece como la nueva  $P_o$  (relativa a la celda de referencia y la solución). La transmitancia de un compuesto en solución se define como la proporción de luz incidente que es transmitida:

$$\text{Transmitancia} = T = P / P_o$$

Usualmente esta razón se describe como un porcentaje

$$\text{Porcentaje de } T = \%T = P / P_o \times 100$$

El concepto de transmitancia es importante porque sólo puede medirse la luz transmitida.

Beer realizó el siguiente experimento, colocó varias cubetas, una tras otra, separadas a distancias iguales y con la misma concentración de una sustancia. Al aplicar energía luminosa a la primera cubeta a una longitud de onda determinada, un cierto porcentaje de la energía aplicada fue absorbida y en cada cubeta sucesiva se absorbió el mismo porcentaje de energía que en la cubeta anterior.

Los valores de transmisión obtenidos fueron los que se muestran en la tabla 1.2; luego incrementó la concentración de la muestra sin variar la trayectoria obteniendo los mismos valores. Esto corresponde a la serie de números 0.5 elevados a las potencias de 0, 1, 2, 3, 4, 5, ..., que decrece en forma exponencial. En definitiva si se alarga el trayecto a recorrer o incrementa la concentración sin variar el trayecto, es igual el aumento del número de moléculas absorbentes.

Tabla 1.2: Valores de Transmisión en función de la trayectoria y de la concentración			
Número de cubetas	Energía transmitida %	Concentración	Energía transmitida %
0	100	0	100
1	50	1	50
2	25	2	25
3	12,5	3	12,5
4	6,25	4	6,25
5	3,125	5	3,125
6	1,5625	6	1,5625
7	0,78125	7	0,78125
8	0,390625	8	0,390625

Cuando la concentración de un compuesto en solución aumenta, más luz es absorbida por la solución y menos es transmitida. El porcentaje de transmitancia varía inversamente y logarítmicamente con la concentración. Sin embargo, es más conveniente usar la absorbancia, A, la cual es directamente proporcional a la concentración. Por lo tanto

$$A = -\log \frac{P}{P_0} = -\log T = \log 1/T$$

Para convertir T en %T, el denominador y el numerador son multiplicados por 100.

$$A = \log \frac{1}{T} * \frac{100\%}{100\%} = \log \frac{100\%}{T}$$

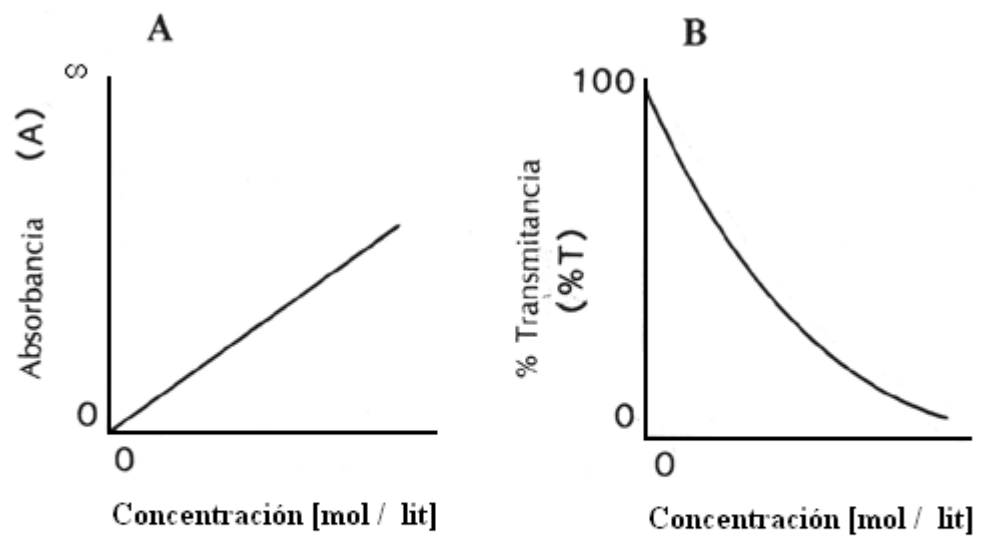
$$A = \log 100\% - \log \%T$$

$$A = 2 - \log \%T$$

Por tanto la absorbancia no es una cantidad directamente cuantificable, sino que se obtiene por cálculo matemático a partir de los datos de transmitancia.

La relación entre absorbancia y %T se ilustra en la figura. 1-3, en la cual la escala lineal de %T (porcentaje de transmitancia) va de 0 a 100%, mientras que la escala logarítmica de la absorbancia ve de infinito a 0.





**FIG. 1.3: Relación de la absorbancia, A, y el porcentaje de transmitancia, B, con la concentración.**

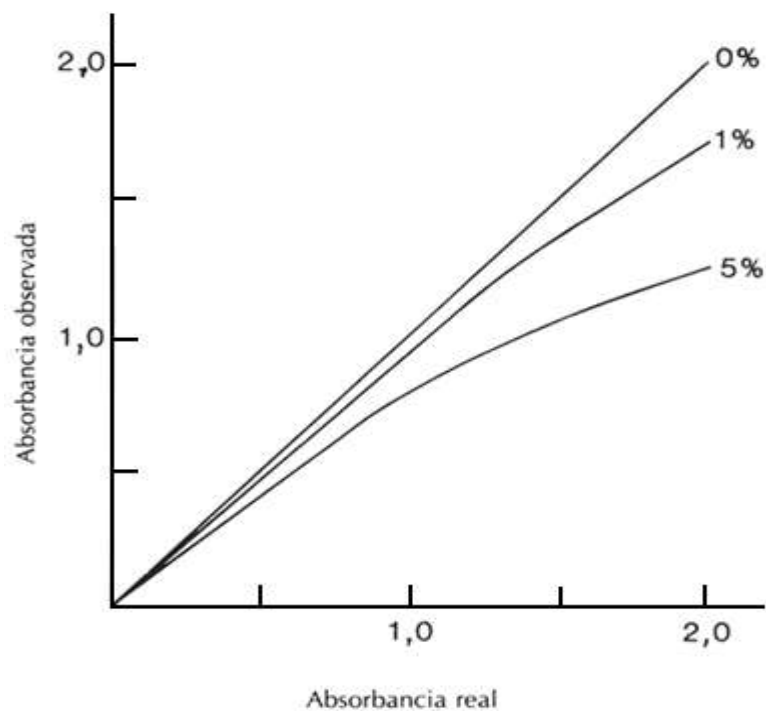
A causa de la relación lineal entre la absorbancia y la concentración, es posible relacionar concentraciones desconocidas con un calibrador único por una ecuación simple de proporciones.

$$\frac{A_u}{A_s} = \frac{C_u}{C_s} \quad \text{Y} \quad C_u = \frac{A_u}{A_s} * C_s$$

Donde  $C_u$  y  $C_s$  son las concentraciones de la muestra y el calibrador respectivamente y  $A_u$  y  $A_s$  son sus respectivas absorbancias.

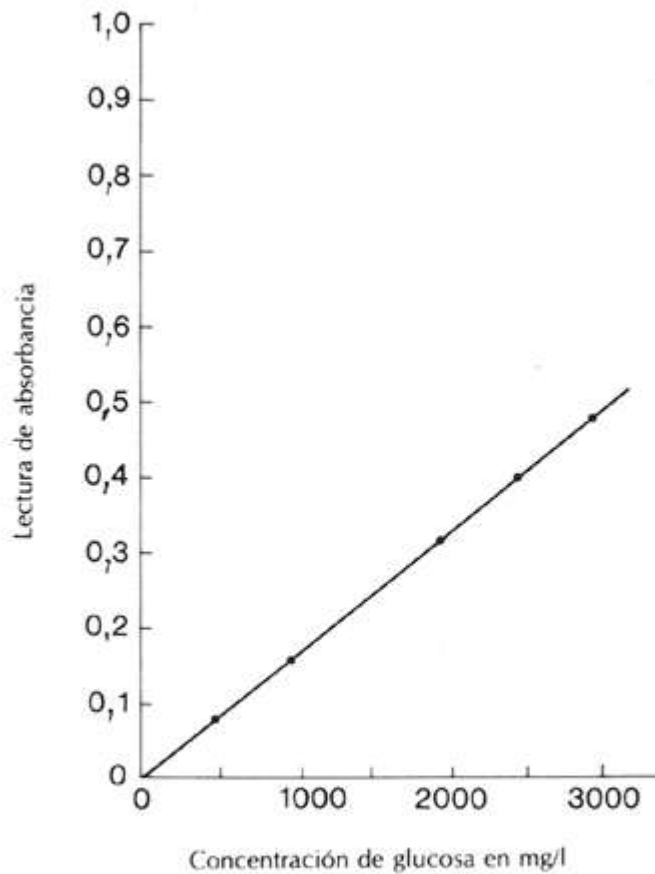
La ecuación arriba descrita es válida sólo si el cromógeno obedece la ley de Beer y tanto el calibrador como la muestra son determinados en la misma celda. El intervalo de concentración sobre el cual el cromógeno obedece la ley de Beer debe determinarse para cada conjunto de condiciones analíticas.

La ley de Beer es una relación matemática ideal que contiene varias limitaciones. Las desviaciones de la ley de Beer, son variaciones en la linealidad de la absorbancia contra la concentración (figura. 1.4) y ocurren cuando: (1) se miden concentraciones muy elevadas, (2) la energía de la radiación incidente no es monocromática, (3) la absorción del solvente es significativa comparada con la absorbancia del soluto, (4) la energía radiante es transmitida por otros mecanismos (luz errática) y (5) los lados de la celda no son paralelos. Si dos o más compuestos absorben a la longitud de onda de la energía radiante incidente, cada uno con diferente absorptividad, no se cumplirá la ley de Beer.



**FIG. 1.4. Efecto de la radiación errática sobre la absorbancia real.**

La Figura 1.5 muestra el cambio de la absorbancia en función de la concentración para un compuesto de glucosa.



**FIG. 1.5: Absorbancia en función de la concentración para una solución de glucosa**

## 1.2 Bioquímica Sanguínea

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.

### 1.2.1

C

#### **Componentes Químicos**

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.

### 1.2.2

O

#### **Obtención de muestras**

Las pruebas de laboratorio, que miden un compuesto analizado en un espécimen de sangre u otro fluido corporal, son ordenadas por los médicos para evaluar el estado del paciente. Se asume que el resultado analítico obtenido es representativo de la concentración real del compuesto analizado en el paciente. Desafortunadamente, hay numerosos factores que pueden invalidar esta suposición. Los errores pueden ocurrir debido a tendencias analíticas; el control de calidad tradicional está dirigido hacia la minimización de errores. Sin embargo, los errores no analíticos pueden también cambiar la concentración de uno o más compuestos analizados en un espécimen de tal forma que los resultados no reflejan la condición fisiológica del paciente. Éstos son llamados colectivamente fuentes de error

pre-analítico. De la misma forma que el control de temperatura, la longitud de onda, y tiempo de incubación limitarán el error analítico, el error pre-analítico también puede ser controlado.

El laboratorio debe determinar cuáles de las pruebas realizadas tienen cambios significativos de concentración, ya sean cíclicos o relacionados con la ingesta de alimentos; la Tabla 1.4 enumera las pruebas más importantes que son afectadas de esta manera. En condiciones óptimas, los especímenes para estas pruebas deben ser colectados tan pronto como el paciente despierte y que todavía esté en ayunas.

<b>Tabla 1.4: Pruebas que sufren cambios significativos de concentración, ya sean cíclicos o relacionados con la ingesta de alimentos</b>	
Alanina aminotransferasa	Bilirrubina, total
Albumina	Calcio, total
Fosfatasa alcalina	Cloro
Amilasa	Colesterol, HDL
Aspartato aminotransferasae	Creatinina
Ferritina	Glucosa, en ayunas
Hierro	Lactato dehidrogenasa
Magnesio	Osmolalidad
Fosfato	Potasio
Proteínas, totales	Sodio
Tirotropina (TSH)	Tiroxina
Triglicéridos	Urea (BUN)
Ácido úrico	

El uso incorrecto de los procedimientos para obtener especímenes puede introducir significativo error en los resultados finales de las pruebas de laboratorio; los errores relacionados con la colecta de muestras en el laboratorio son las causas más comunes de

resultados erróneos. Programas de certificación en flebotomía (Punción de una vena con una aguja con el propósito de obtener una muestra de sangre.) han establecido los estándares para capacitar y educar a los flebotomistas (Personas encargadas de realizar la flebotomía). En hospitales, la flebotomía es llevada a cabo por una variedad de individuos (enfermeras, asistentes de médicos, y estudiantes) quienes tienen un entrenamiento formal limitado, o incluso carecen de él, en técnicas de flebotomía.

En la mayoría de los laboratorios, los especímenes son colectados usando tubos al vacío y agujas especialmente diseñadas, que permiten simultáneamente la punción de la vena y del tapón del tubo. Los tubos para colecta son típicamente hechos de vidrio, aunque los tubos de plástico están siendo usados más frecuentemente; ambos son apropiados para la mayoría de las pruebas. Muchos tubos están cubiertos con silicón, el cual reduce la adhesión del coágulo, permitiendo mejor separación del suero y de las células. En algunos casos, la sangre es extraída con una jeringa y entonces se transfiere al tubo para trasladarla al laboratorio. Este procedimiento, presenta el riesgo de contaminación para el flebotomista durante la transferencia de la muestra. El método más seguro para preparar alícuotas de muestras es seleccionar los tubos necesarios que contienen anticoagulantes o preservativos y retirar los tapones de los tubos antes de colectar la muestra. Después de colectar la muestra, se desprende la aguja de la jeringa, y la sangre es vaciada en los tubos; entonces se colocan nuevamente los tapones. La inyección de la sangre en los tubos vacíos incrementa el riesgo de punción en la piel por la aguja y también incrementa el riesgo de producir hemólisis (Ruptura de glóbulos rojos, liberando al suero o plasma los contenidos internos de la célula) en la muestra.

La hemólisis ocurre cada vez que hay un trauma de los relativamente frágiles eritrocitos (o también llamados glóbulos rojos, son células circulantes en la sangre encargadas de transportar el oxígeno), ya sea durante la colecta, o con menor frecuencia después de la flebotomía. Una causa poco común de hemólisis, es cuando se lleva a cabo la flebotomía antes de que se seque el alcohol o cualquier otro desinfectante usado. Frecuentemente la

hemólisis es causada por un flujo turbulento no laminar, durante el proceso de colecta. Dentro de los tamaños de agujas que comúnmente se utilizan, la hemólisis no es causada por el uso de agujas muy grandes o muy pequeñas. El flujo no laminar (Que no está ordenado en forma de capas, con cambios graduales de una capa a otra. En los líquidos, el flujo no laminar produce ruptura de fuerzas, al ponerse en contacto diferentes capas o laminas.) ocurre comúnmente cuando la sangre se mueve muy lentamente o demasiado rápido a través de la aguja. Si la sangre se extrae con una jeringa, al sacar el embolo con fuerza o al inyectar la sangre en los tubos usando presión en el embolo, generalmente se produce hemólisis

En niños y adultos con difícil acceso venoso, puede hacerse una punción capilar para la obtención de la muestra. Ciertos microtubos especiales, que contienen anticoagulantes, pueden llenarse por capilaridad. Si las muestras van a ser transportadas al laboratorio, estos tubos capilares deberán contener una pequeña pieza metálica que debe moverse a través de la muestra por medio de un imán para mezclar la sangre inmediatamente después de colectarla y antes de someterla a centrifugación o análisis. Si la prueba se va a realizar cerca del lugar de la toma, como es típico para muchos de los instrumentos portátiles usados cerca del paciente, estos aditamentos para mezclar la sangre no son necesarios, ya que la tardanza entre la colecta y el análisis es mínima. La contaminación de la muestra con fluidos de tejido es una causa potencial de preocupación en todos los procedimientos de colección capilar de sangre, ya que el fluido tisular virtualmente no contiene proteínas y, por lo tanto, no tiene compuestos analizados unidos a proteínas. Este tipo de contaminación puede ser minimizado usando solo la sangre que fluye libremente del sitio de punción. Es por lo tanto inaceptable obtener sangre aplicando presión al tejido cerca del sitio de punción.

### **ifras normales de química sanguínea**

La interpretación médica de los datos de laboratorio clínico es un proceso de decisión comparativo, en el cual el resultado de un examen de laboratorio de un individuo es comparado con el intervalo de referencia obtenido para los valores de referencia. Se requiere, por lo tanto, una gran confiabilidad en los valores aportados por los laboratorios clínicos y por los fabricantes de reactivos para diagnóstico. Los intervalos de referencia usados con mayor frecuencia, generalmente se encuentran definidos, de una manera deficiente.

Los intervalos de referencia deben ser determinados en forma sistemática y científica de tal manera que proporcionen un grado aceptable de confianza para la toma de decisiones clínicas, lo que incluye la consideración de los factores significativos y variables introducidas por el proceso analítico en sí mismo. Entender el proceso empleado para establecer los intervalos de referencia ayuda a comprender mejor las limitaciones que éstos tienen.

Para facilitar la elaboración de valores de referencia confiables, El Comité Nacional de Estándares para Laboratorios Clínicos (“National Committee for National Laboratory Standards”, o “NCCLS”, en inglés) publicó un documento titulado “Como definir y determinar valores de referencia en el laboratorio clínico; lineamientos aprobados”, documento NCCLS C28–A, el cual establece guías y procedimientos para determinar la validez de los valores e intervalos de referencia para pruebas de laboratorio cuantitativas.

El documento del NCCL clasifica los factores significativos y las variables que podrían afectar los intervalos de referencia, basándose en las recomendaciones hechas por el Grupo de expertos en la Teoría de los valores de referencia de la Federación Internacional de Química Clínica. Las recomendaciones aportadas por el NCCLS están dirigidas a elaborar un protocolo estándar para determinar intervalos de referencia que cumplan con los requisitos mínimos de confiabilidad.



Los intervalos de referencia que se usan más comúnmente para describir individuos sanos han sido conocidos como valores normales, refiriéndose a los valores de referencia que se han observado en personas normales o sanas. Los resultados de las pruebas que se encuentran fuera de estos intervalos de referencia podrían, por lo tanto, ser observados en personas con enfermedades o en estados deficitarios de salud y por lo tanto ser denominados anormales. Las [tablas 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9 y 1.10](#), detallan ciertos valores considerados normales en nuestro medio.

<b>Tabla 1.5: Intervalos de referencia para Creatinina y depuración de Creatinina</b>			
<b>Edad</b>	<b>Creatinina sérica mg/L (mmol/L)</b>	<b>Creatinina urinaria g/día (mmol/día)</b>	<b>Depuración de creatinina (mL/min.)</b>
>12 años	2.5-8.5 (22-75)	0.057 g (0.5 mmol/kg) de músculo	50-90
Hombres adultos	6.4-10.4 (57-92)	1.0-2.0 (8.8-17.7)	97-137
Mujeres adultas	5.7-9.2 (50-81)	0.8-1.8 (7.1-15.9)	88-128

<b>Tabla 1.6: Intervalos de referencia para urea</b>		
<b>Método</b>	<b>para adultos (suero)</b>	<b>Salida urinaria de urea</b>
Ureasa/ GLDH	50 a 170 mg BUN/L (107 a 365 mg urea/L, 1.8 a 6.1 mmol/L)	7 a 16 g de BUN/24 horas(0.25 a 0.57 mol de urea/24 horas)
Ureasa conductividad	60 a 200 mg BUN/L (129 a 469 mg de urea/L, 2.2 a 7.2 mmol/L)	
Diacetil monoxima	80 a 260 mg BUN/L (172 a 558 mg de urea/L, 2.9 a 9.4 mmol/L)	

<b>Tabla 1.7: Intervalos de referencia para el ácido úrico</b>	
Suero o plasma	
36 a 77 mg/L (214 a 458 (m/L) para hombres.	
28 a 68 mg/L (149 a 405 (m/L) para mujeres.	

### **Función hepática**

<b>Tabla 1.8: Intervalos de referencia para la albúmina.</b>	
EDAD	ALBÚMINA (g/L)
Infantes	29-55
Niños	38-55
21-44 años	33-61 (hombres)
20-44	28-57 (mujeres)
45-54 años	29-61 (hombres)
45-54 años	25-54 (mujeres)
55-93 años	32-55 (hombres)
55-81 años	32-53 (mujeres)

### **Intervalo de referencia para alanina aminotransferasa (ALAT)**

La medición de la ALAT en adultos a 37° C da usualmente actividades de 10 a 50 U/L. Tanto los recién nacidos como los infantes tienen actividades en el suero que son dos a tres veces las encontradas en los sueros adultos. La actividad mayor en el suero de los recién nacidos e infantes se puede atribuir a la filtración de la enzima a través de la membrana del hepatocito la cual es más permeable en los recién nacidos e infantes.

La transaminasa ALAT cataliza la conversión de alanina a piruvato.

### Intervalos de referencia para aspartato aminotransferasa (ASAT)

En los adultos, los intervalos normales de referencia para la ASAT en suero o plasma son de 5 a 34 U/L cuando el análisis se realiza a 37° C. En los recién nacidos e infantes, las actividades enzimáticas son aproximadamente el doble de las encontradas en los adultos. Aproximadamente a los seis meses, las actividades enzimáticas de este grupo se acercan a las encontradas en los adultos.

La enzima aspartato aminotransferasa cataliza la interconversión de los aminoácidos L-aspartato y L-glutamato a través de la transferencia de grupos amino. Exactamente la conversión de aspartato a oxaloacetato.

<b>Tabla 1.9: Intervalo de referencia para la fosfatasa alcalina</b>			
MUJERES	F. alc.	HOMBRES	F. alc.
(Edad en años)	(hasta en U/L)	(Edad en años)	(hasta en U/L)
Recién nacidos	250	Recién nacidos	250
1 a 12	350	1 a 12	350
10 a 14	280	10 a 14	275
15 a 19	150	15 a 19	155
20 a 24	85	20 a 24	90
25 a 34	85	25 a 34	95
35 a 44	95	35 a 44	105
45 a 54	100	45 a 54	120
55 a 64	110	55 a 64	135
65 a 74	145	65 a 74	140
75+	165	75+	190

### **Intervalo de referencia para la bilirrubina**

Los niveles de bilirrubina total en los adultos sanos son de máximo 15 mg/L (25.7 mmol/L) con una mediana de 7.0 mg/L (12 mmol/L). La concentración de la mediana se eleva con la pubertad en ambos sexos, cayendo en la tercera década y permaneciendo estable a continuación.

Se encuentran niveles de bilirrubina conjugada de 2 mg/L en los infantes de 1 mes. La bilirrubina conjugada permanece en ese nivel por el resto de la vida.

### **Función pancreática.**

#### **Valores de referencia para la amilasa.**

Los intervalos de referencia difieren entre los ensayos comercialmente disponibles, debido a las diferencias en los substratos utilizados y en la preparación de reactivos. Los valores de referencia dados por un equipo comercial disponible y que utiliza una técnica colorimétrica son <88 U/L. La actividad de la amilasa en recién nacidos es aproximadamente una quinta parte de la que se encuentra en adultos, los niveles de amilasa en estos últimos se alcanzan generalmente a partir de los 3 ó 4 años de edad. No se han observado diferencias en actividades de amilasa relacionadas con el género.

#### **Valores de referencia para la lipasa.**

Los intervalos de referencia para la actividad de la lipasa en individuos normales y sanos dependen del método utilizado. El límite de referencia superior para los procedimientos turbidimétricos es aproximadamente de 200 U/L, mientras que el límite superior de referencia para los ensayos colorimétricos es aproximadamente 60U/L. La actividad de la lipasa en suero permanece relativamente constante hasta cerca de la sexta década de la vida, cuando los valores pueden aumentar como en un 20% sobre los niveles normales establecidos. No existen diferencias en la actividad de lipasa relacionadas con el género.

## Carbohidratos

<b>Tabla 1.10: Concentraciones de glucosa en individuos normales o sanos</b>	
En suero:	
Niños menores de 5 años	595 - 945 mg/L.
Recién nacidos	200 - 800 mg/L. ; 1.11 a 4.44 mmol/L.
Adultos	700 - 1050 mg/L. ; 3.9 a 5.8 mmol/L.
En líquido cefalorraquídeo:	
Niños menores de 5 años	238 - 756 mg/L.
Recién nacidos	80 - 320 mg/L. ; 0.44 a 1.77 mmol/L.
Adultos	280 - 420 mg/L. ; 1.55 a 2.33 mmol/L.
En sangre Total	
Niños menores de 5 años	506 - 803 mg/L.
Recién nacidos	170 - 680 mg/L. ; 0.94 a 3.77 mmol/L.
Adultos	595 - 893 mg/L. ; 3.32 a 4.93 mmol/L.

Las concentraciones totales en la sangre varían con el hematocrito. La glucosa sanguínea total se aproxima muy marcadamente a la glucosa en suero cuando el hematocrito (Volumen de eritrocitos conglomerados) es bajo. La diferencia del 15% entre la glucosa sanguínea total y la glucosa plasmática descrita en la tabla es para un valor del hematocrito de aproximadamente el 45%.

### **Intervalos de referencia para la insulina.**

Los rangos de referencia para la insulina del suero son dependientes de factores como el tipo de ensayo usado para su medida y por el estado clínico del paciente en relación a la concentración de glucosa en sangre. Las concentraciones de insulina en pacientes en ayuno son típicamente menores que 25 mU/mL (1042 pg/mL, 0.17 pmol/mL).

### **Intervalos de referencia para el acetoacetato.**

Los rangos de referencia que han sido establecidos para el acetoacetato del suero son de 5 a 30 mg/L (0.09 a 0.52 mmol/L). No han sido reportadas diferencias en los cuerpos cetónicos relacionadas con la edad. Para las otras cetonas, los rangos de referencia son menores de 10 mg/L (0.1 mmol/L), mientras que se han informado rangos de referencia para el beta-hidroxibutirato menores de 0.7 mmol/L

### **Intervalo de referencia para el ácido acetoacético.**

Las concentraciones de ácido acetoacético en el suero de individuos sanos son menores de 0.1 mmol/L

Los cuerpos cetónicos: ácido acetoacético, ácido beta hidroxibutírico y acetona se encuentran presentes en el suero de pacientes con cetoacidosis diabética. Si ocurre una movilización excesiva de ácidos grasos, como en la cetoacidosis diabética o en la intoxicación alcohólica, se produce una síntesis aumentada de cuerpos cetónicos en el hígado.

### **Intervalo de referencia para Colesterol**

El colesterol es deseable que sea menos de 200 mg/dL, 239 se considera el límite alto. Valores mayores de 240 mg/dL se dice que son valores altos de riesgo.

### **Intervalo para LDL Colesterol (Lipoproteína de baja densidad)**

El valor deseado normal debe estar por debajo de los 130 mg/dL, entre 130 y 159 mg/dL de considera valor de limite alto. Mayores que 160 mg /dL se considera valor muy alto

## **1.3 Metabolismos corporales**

El riñón es el principal regulador de todos los fluidos corporales y es primariamente responsable de mantener la homeostasis, o equilibrio entre fluido y electrolitos en el organismo. El riñón tiene seis funciones principales:

1. Formación de la orina
2. Regulación del equilibrio hidroelectrolítico

3. Regulación del equilibrio ácido-base
4. Excreción de los productos de desecho del metabolismo proteico
5. Función hormonal
6. Conservación proteica

El riñón es capaz de efectuar estas funciones complejas porque aproximadamente el 25% del volumen de sangre bombeado por el corazón en la circulación sistémica circula a través de los riñones; por lo tanto los riñones, que constituyen cerca del 0.5% del peso total del cuerpo, reciben un cuarto del gasto cardiaco. Una de las principales funciones del riñón es la eliminación de productos nitrogenados del catabolismo de las proteínas.

Las enormes reservas del riñón para la excreción de los productos del catabolismo proteico se manifiestan en el hecho de que las concentraciones sanguíneas de estos productos no están elevadas en una falla renal hasta que la función renal se reduce a menos que la mitad de lo normal. La función principal de los riñones es la remoción de productos potencialmente tóxicos y es realizada mediante la formación de la orina. Los procesos básicos involucrados en la formación de la orina son filtración, reabsorción y secreción.

Los riñones filtran grandes volúmenes de plasma, reabsorben la mayoría de lo que es filtrado y queda para la eliminación una solución concentrada de desechos metabólicos llamada orina. En individuos sanos, altamente sensibles a fluctuaciones de la dieta e ingesta de fluido y electrolito, los riñones compensan cualquier cambio variando el volumen y la consistencia de la orina. Hay muchos síndromes que solos o en combinación permiten sospechar una posible enfermedad renal. Por ejemplo:

La glomerulonefritis aguda es una inflamación aguda del glomérulo (los glomérulos son ovillos de pequeños vasos renales que se proyectan en el interior del extremo de los túbulos proximales; funcionan como el mecanismo filtrante del riñón), resultando en

oliguria (Excreción anormalmente baja de orina, o sea, menor de 400 mL/ día en un adulto ), hematuria (La presencia de glóbulos rojos en la orina ), aumento de los niveles séricos de urea y creatinina, disminución de la velocidad de filtración glomerular (IFG), formación de edema e hipertensión. La presencia de glóbulos rojos en la orina (hematuria) por si solos no es evidencia suficiente de glomerulonefritis aguda, pues la sangre puede originarse desde otra parte del riñón o del tracto urinario.

La enfermedad tubular es un desorden de la función tubular renal, la depresión en la función renal no puede ser explicada por la reducción en la velocidad de filtración glomerular (IFG). Defectos de la función tubular pueden resultar en una deprimida secreción o reabsorción de sustancias bioquímicas específicos o deterioro de los mecanismos de concentración y dilución urinaria. La acidosis tubular renal (ATR) es el desorden clínico más importante de la función tubular.

Las infecciones del tracto urinario pueden ocurrir en la vejiga (cistitis) o pueden involucrar los riñones (pielonefritis). La presencia de una concentración bacteriana urinaria de más de 100,000 colonias/mL es diagnóstico de una infección del tracto urinario. En una infección del tracto urinario hay un elevado número de glóbulos blancos en la orina.

**El hígado** es el órgano principal para el metabolismo de los carbohidratos, proteínas, lípidos, porfirinas y ácidos biliares. Es capaz de sintetizar la mayoría de las proteínas del cuerpo con excepción de las inmunoglobulinas (proteínas con actividad de anticuerpo), producidas por el sistema de las células plasmáticas linfocíticas (los linfocitos son una división de los leucocitos y se encargan de la producción de anticuerpos). El hígado es también el sitio principal para el almacenamiento del hierro, glicógeno, lípidos y vitaminas. El hígado juega un papel importante en la desintoxicación de los xenobióticos (Compuestos, a menudo fármacos, que no se producen normalmente en el cuerpo) y la excreción de los productos metabólicos finales como bilirrubina, amoníaco y urea. Entre las posibles enfermedades del hígado tenemos.



La ictericia que es una condición general provocada por el metabolismo anormal o la retención de la bilirrubina. La ictericia le produce una coloración amarilla a la piel, membranas mucosas y escleras. Se puede observar la ictericia típicamente con niveles de bilirrubina sérica de aproximadamente 50 mg/dL. Los tres tipos principales de ictericia son la prehepática, la hepática y la posthepática.

La ictericia prehepática es el resultado de las anemias hemolíticas agudas o crónicas. La ictericia hepática incluye los trastornos del metabolismo de la bilirrubina y los defectos en el transporte tales como la enfermedad de Crigler-Najer, el síndrome de Dubin-Johnson y la enfermedad de Gilbert, así como la ictericia fisiológica del recién nacido y enfermedades que provocan la injuria o la destrucción hepatocelular.

La ictericia hepática incluye los desórdenes caracterizados por daño hepatocelular o necrosis, tales como hepatitis o cirrosis. La ictericia posthepática es causada generalmente por una enfermedad obstructiva biliar provocada por espasmos o contracciones del tracto biliar, la oclusión dúctil por cálculos o compresión por enfermedad neoplásica.

La hepatitis es un término general que significa “inflamación del hígado” y se usa para describir enfermedades que producen daño hepatocelular. La hepatitis es causada usualmente por agentes infecciosos o tóxicos. La hepatitis viral es la causa más común de enfermedad hepatocelular aguda. Se han identificado cuatro tipos de virus de hepatitis: el virus de tipo A, el virus de tipo B, el virus de tipo C y el virus de hepatitis delta. Se ha considerado este último virus como defectuoso, requiriendo la presencia del virus tipo B para infectar.

La causa más común de daño hepático inducido por fármacos es la ingestión crónica excesiva de alcohol. Los hallazgos de laboratorio asociados con este daño son una elevación de la GGT, una elevación ligera de las transaminasas, un aumento en la fracción de la globulina con una disminución en la fracción de la albúmina del suero. Otras drogas que inducen daño hepático son los barbitúricos, los antidepresivos tricíclicos, los

antiepilépticos, la isoniazida y el acetaminofén. Estas drogas elevan típicamente la gamma-glutamilttransferasa GGT (es una enzima localizada en la membrana que juega un papel importante en el metabolismo del glutatión y en la reabsorción de los aminoácidos del filtrado glomerular y de la luz intestinal) sérica. El acetaminofén es altamente hepatotóxico. Las sobredosis requieren un monitoreo cuidadoso para prevenir la muerte por falla hepática. La suspensión de la droga permite la regeneración hepática. Las drogas quimioterapéuticas como la vincristina, la vinblastina, la actinomicina D, y el 5 fluorouracilo, causarán típicamente una elevación de las transaminasas séricas y la deshidrogenasa láctica debido al daño tisular hepático y la liberación de las enzimas.

Tumores hepáticos y otras enfermedades del hígado. La mejor forma para diagnosticar la fibrosis hepática congénita, los quistes hepáticos y los abscesos hepáticos es por biopsia hepática. Sin embargo estos desórdenes pueden estar acompañados por cambios no específicos en las enzimas hepáticas y la retención del verde de indocianina. Los tumores hepáticos alteran frecuentemente la función hepática como consecuencia de compresión tisular durante los procesos de crecimiento tumoral y de infiltración. Esto provoca un aumento en la fosfatasa alcalina sérica, la 5'-nucleotidasa y especialmente la GGT. La demostración de alfafetoproteína sérica es diagnóstica de un tumor hepático en presencia de una tomografía hepática anormal.

**El páncreas** tiene aproximadamente el tamaño y forma de la mano, la cola del páncreas apunta hacia el bazo y la cabeza se anida en el arco duodenal. Es una glándula muy suave y fácilmente traumatizable que se encuentra detrás del peritoneo, que se coloca atrás de la membrana serosa que recubre la pared abdominal.

El páncreas recibe una abundante irrigación sanguínea proveniente de una arteria derivada de la aorta. Las funciones exocrinas del páncreas se localizan en la célula acinar, centroacinar y ductal. El páncreas puede ser la “glándula maestra” del cuerpo si se consideran los graves trastornos digestivos y metabólicos que aparecen cuando se pierden sus funciones exocrinas y endocrinas.

Las enfermedades del páncreas pueden ser agrupadas en general en ciertas áreas: alteraciones endocrinas como la diabetes mellitus y trastornos en la secreción de glucagón; exocrinas como la insuficiencia pancreática y absorción intestinal deficiente asociada; inflamatorias como la pancreatitis aguda; destructivas como aquellas que resultan de la fibrosis quística y de la pancreatitis crónica; infecciosas de muchos tipos, incluyendo al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH); ateroscleróticas y atróficas; y neoplásicas como adenocarcinomas y tumores de la células de los islotes. Entre las enfermedades pancreáticas endocrinas el mayor trastorno endocrino es la diabetes mellitus (DM), una enfermedad con morbilidad y mortalidad mucho mayor que todas las otras alteraciones pancreáticas combinadas. La insulina es necesaria para la vida y una deficiencia relativa o absoluta de ella lleva a la DM.

Enfermedades pancreáticas exocrinas. La reducción o pérdida de la función pancreática exocrina (digestiva) lleva a trastornos gastrointestinales graves como diarrea, constipación y absorción deficiente. En los casos de enfermedad avanzada aparece un estado catabólico que lleva a pérdida de peso y caquexia (Es un estado de debilidad progresiva, pérdida del apetito, desnutrición y pérdida de peso que se observa en algunas enfermedades crónicas así como en cáncer en estado avanzado).

El páncreas exocrino tiene amplias reservas; los síntomas generalmente aparecen cuando cerca del 85 % a 90 % del tejido acinar se pierde.

Las pruebas de laboratorio importantes a este respecto, son la determinación de glucosa en sangre, fructosamina y hemoglobina con objeto de conocer el control glucémico a corto y largo plazo.

La pérdida de la función exocrina es común en la fibrosis quística y en algunos sujetos con ataques repetidos de pancreatitis generalmente causados por el abuso crónico del alcohol.

Existen algunas pruebas de función pancreática que junto con la de grasa en materia fecal son las más importantes.

Las pruebas en suero son las menos sensibles y menos específicas a pesar de ser las más fáciles de realizar. La [tabla 1.11](#) nos muestra uno de los mecanismos propuestos para la evolución de la pancreatitis, aún cuando los factores que llevan a la pancreatitis son desconocidos.

Tabla 1.11: Eventos posibles en el desarrollo de pancreatitis aguda.	
Evento	Causas Probables
Daño a las membranas de células acinares	Reflujo de bilis o jugo pancreático hacia el páncreas, irritación del duodeno por alcohol o precipitación de tapones proteicos en la glándula, infección o inflamación en la vesícula biliar con extensión al páncreas, infección del páncreas por virus u otros
Cambios bioquímicos en la glándula	Activación de proenzimas como protripsina, proelastasa y pro-fosfolipasa A2 a sus formas bioquímicamente activas, oclusión del conducto o conductillos pancreáticos: conversión de
Edema, tumefacción de la cápsula pancreática	Inflamación glandular, alteración del flujo sanguíneo aferente o referente de la glándula.
Tetania y arritmias cardiacas, distrés respiratorio	Necrosis de la grasa peripancreática, secuestro de Ca <sup>++</sup> por ácidos grasos, hipocalcemia refractaria, sustancias tóxicas desconocidas (fosfolipasa A2?) que
Necrosis hemorrágica de la glándula, choque, colapso circulatorio, choque pronunciada del	Autólisis y digestión de la glándula con sangrado al espacio retroperitoneal, liberación de quininas plasmático hipotensoras, efecto citotóxico de la lisolectina (de la bilis).
Muerte	Insuficiencia aguda respiratoria y circulatoria, hipotensión refractaria.

## 1.4 Equipo Básico de Colorimetría

Un equipo básico, consta de los siguientes componentes:

- Una fuente de luz
- Un monocromador
- Una celda de absorción
- Fotodetectores
- Dispositivo de salida de información

La luz blanca policromática, proveniente de una fuente de luz, pasa por el monocromador, produciéndose un espectro de colores; una estrecha abertura o rendija no deja pasar sino una estrecha banda cromática, reteniendo la luz restante. En la cubeta, la muestra absorbe una parte de esta luz y la que pasa incide en un detector, éste entrega una señal a un amplificador, el cual acciona un dispositivo de medida y un registrador de datos. La figura 1.6, muestra un diagrama de bloques de un equipo básico.

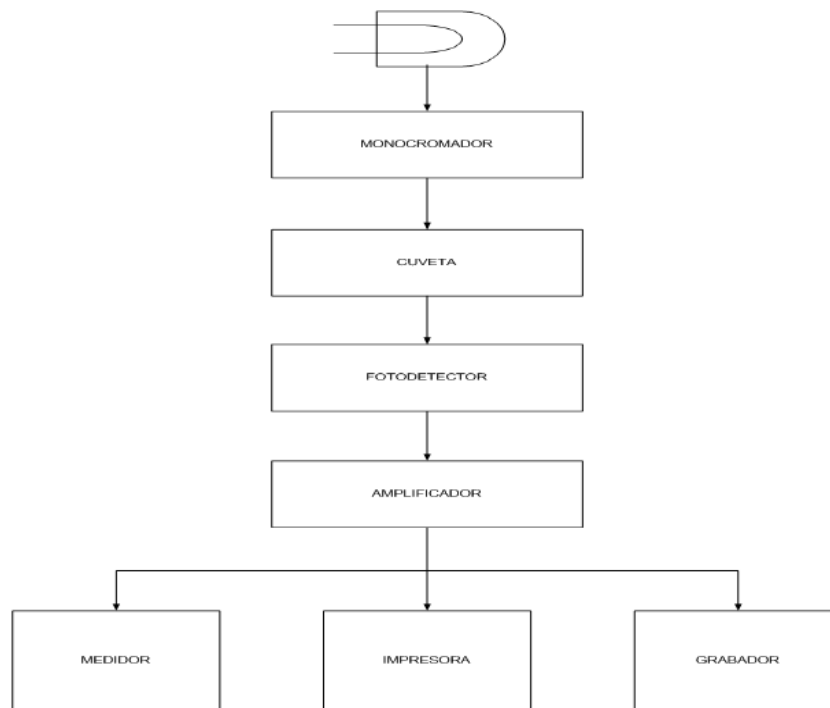


FIG. 1.6: DIAGRAMA DE BLOQUES DE UN ESPETROFOTÓMETRO BÁSICO

### 1.4.1

F

#### Fuente de Luz

La luz es una parte de las ondas electromagnéticas y dentro de éstas se encuentran las pertenecientes al espacio visible para el ojo humano. La luz visible se encuentra limitada por los dos lados del espectro con luz invisible para el ojo humano, siendo estas ondas, los rayos ultravioleta y por el otro lado los rayos infrarrojos.

La energía radiante electromagnética es una forma de energía que puede describirse en términos de sus propiedades ondulatorias. Las ondas electromagnéticas viajan a grandes velocidades y no se requiere la existencia de un medio de soporte para su propagación.

La longitud de onda ( $\lambda$ ) de un rayo de energía radiante electromagnética es la distancia lineal atravesada por un ciclo completo de onda y usualmente se expresa en nanómetros (nm,  $10^{-9}$  metros). La frecuencia ( $f$ ) es el número de ciclos que ocurren por segundo y se obtiene por la relación

$$f = \frac{c}{\lambda} \quad (1)$$

Donde  $c$  es la velocidad de la luz ( $c = 3 \times 10^{10}$  cm/s)

Puede demostrarse que la energía radiante se comporta como si estuviera compuesta de cargas discretas de energía llamada fotones. La energía de un fotón es variable y depende de la longitud de onda o frecuencia de la energía radiante. La relación entre la energía ( $E$ ) de un fotón y la frecuencia está dada por la fórmula

$$E = h \times f \quad (2)$$

Donde  $h$  es la constante de Planck y tiene un valor numérico de  $6.62 \times 10^{-27}$  erg.seg.

Sustituyendo (1) en (2)

$$E = h \times \frac{c}{\lambda}$$

Esta ecuación demuestra que las longitudes de onda corta tienen mucha más energía que las longitudes de onda larga.

La figura 1.7 es una gráfica de la relación energía, frecuencia y longitud de onda.

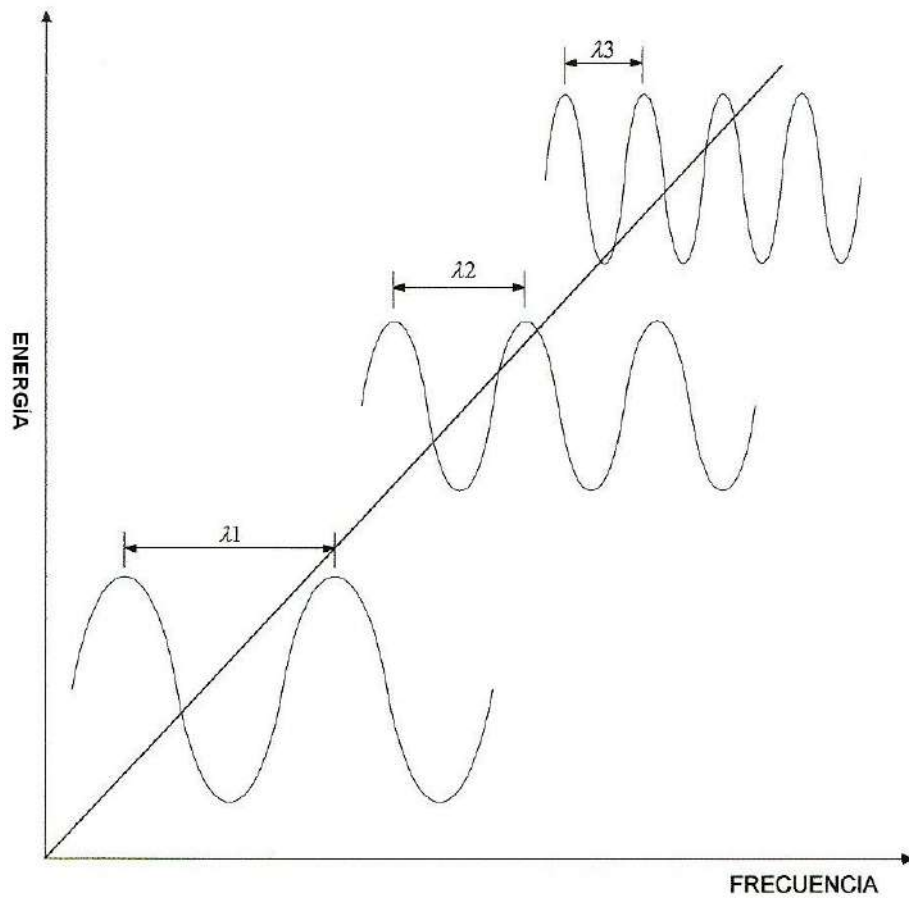


FIG. 1.7: Relación energía, frecuencia y longitud de onda

La longitud de onda también se la puede expresar en las siguientes unidades.

Angstrom  $\text{\AA} = 10^{-10}$  metros

Nanómetro  $nm = 10^{-9}$  metros

Micrómetro  $\mu m = 10^{-6}$  metros

Como fuente luminosa se usa una lámpara. Existen varios tipos de lámparas disponibles en el mercado local. Por lo regular se emplea para la construcción de fotómetros los siguientes tipos de lámparas:



## 1.4.1.1

**tipos de Lámparas**

Una lámpara con filamento de tungsteno es útil como fuente de un espectro continuo de energía radiante de 360 a 950 nm. La lámpara de yoduro de tungsteno se utiliza frecuentemente como fuente de energía radiante visible y ultravioleta cercana. Los filamentos de haluros de tungsteno son de mayor duración, producen más luz a longitudes de onda corta, y emiten energía radiante de mayor intensidad que los filamentos de tungsteno.

Las lámparas de descarga de hidrógeno y deuterio emiten un espectro continuo, siendo utilizadas en la región del espectro ultravioleta (de 220 a 360 nm). La lámpara de deuterio tiene más intensidad que la de hidrógeno. Las lámparas de vapores de mercurio producen un espectro discontinuo o de líneas (313, 365, 405, 436 y 546 nm). Estas son útiles para propósitos de calibración de longitudes de onda pero no son utilizadas en muchos espectrofotómetros. La lámpara de mercurio es usada en fotómetros y en espectrofotómetros, empleándose para cromatografía líquida de alta resolución. Recientemente, están siendo empleados diodos emisores de luz como fuente luminosa.

Es importante tener presente que una cantidad de luz emitida de una fuente de luz no es constante en un intervalo continuo de longitudes de onda, por lo tanto una lámpara normal tiene un espectro complejo de transmitancia máxima y mínima. Las lámparas de diversos tipos pueden variar y también las de los diferentes fabricantes. Por lo tanto se debe tener cuidado en la elección de una lámpara para un análisis determinado, ya que la cantidad de luz emitida a una longitud de onda deseada debe ser muy pequeña o muy grande. Por ejemplo, las lámparas de hidrógeno o deuterio usadas para el análisis ultravioleta, tienen una salida máxima de radiación en el rango de 250 a 300 nm. La salida de energía radiante de longitudes de onda larga (mayores de 340 nm) es considerablemente menor y puede ser muy débil para muchos análisis.

## 1.4.2

Mon

### ocromador

El monocromador es la parte del sistema que sirve para aislar la longitud de onda deseada, excluyéndola de cualquier otra energía irradiada.

En un monocromador, la energía radiante de una fuente de luz se dispersa por una red de difracción o un prisma en un espectro, en el cual la longitud de onda deseada se aísla mediante hendiduras mecánicas.

Una red de difracción consiste en un gran número de líneas guías paralelas, igualmente espaciadas sobre una superficie. La dispersión por una red de difracción es lineal, por lo tanto sólo dos longitudes de onda diferentes deben verificarse para validar la exactitud de las longitudes de onda.

### 1.4.2.1

F

#### iltros

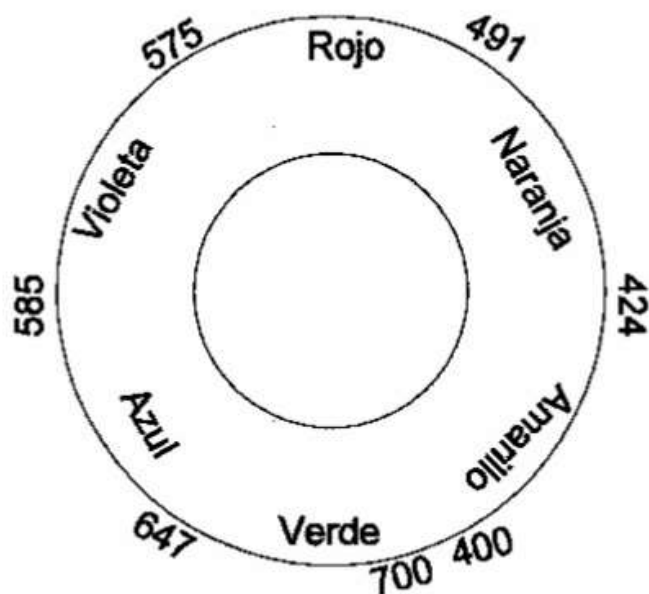
Los filtros son dispositivos sencillos, que consisten en un solo material, que transmite selectivamente la longitud de onda deseada y absorbe el resto de las longitudes de onda.

Hay dos tipos de filtros: (1) los que tienen características de transmisión selectivas, que incluyen los filtros de vidrio y Wratten, y (2) los que se basan en los principios de interferencia (filtros de interferencia).

El filtro Wratten consiste de una capa de gelatina coloreada entre láminas de vidrio claro; los filtros de vidrio están compuestos de una o más capas de vidrio coloreado. Ambos tipos de filtros transmiten más energía radiante en algunas partes del espectro que en otras. Los filtros de interferencia funcionan sobre un principio diferente. El fundamento es el mismo que aquel en que se basa el juego de colores de una película de jabón, y se

denomina interferencia. Cuando la energía radiante choca contra una película delgada, parte se refleja en la superficie frontal, pero el resto de la energía radiante que penetra la película se refleja por la superficie del otro lado. Los últimos rayos de energía radiante han viajado más que el primero por una distancia igual al doble del espesor de la película. Si los dos rayos reflejados están en fase, la intensidad resultante se duplica, pero si no están en fase se eliminan uno al otro. Por lo tanto cuando la luz blanca choca contra la película, algunas longitudes de onda reflejadas serán aumentadas y otras destruidas. Para elegir el color de filtro apropiado para trabajar, se escoge, un color visiblemente opuesto al color de la solución a ser ensayada. Así por conveniencia se ha ideado la rueda de longitudes de onda que muchos fabricantes de equipos manuales la usan sin ningún cambio. La Figura 1.8 nos da una idea de ésta rueda.

Así por ejemplo para una solución roja se escogerá un filtro verde, para una solución violeta un amarillo, etc. Sin embargo en la práctica las diferentes casas comerciales que venden reactivos para aplicaciones en colorímetros adjuntan una técnica con los datos de la sustancia y la longitud de onda para la cual se obtendrá los mejores resultados.



**FIG. 1.8: Rueda de longitudes de onda**

### 1.4.2.2

P

#### Prisma

Es el elemento dispersante de un monocromador. La dispersión por un prisma es no lineal, haciéndose menos lineal a longitudes de onda largas (sobre 550 nm). Por lo tanto, para validar la calibración de longitudes de onda se debe verificar tres longitudes de onda. Los prismas dan sólo una medida del espectro emergente y de esta manera proporcionan mayor eficiencia óptica, dado que la energía incidente es distribuida sobre un solo espectro.

Cuando se pasa un rayo de luz a través de un prisma, este rayo se esparce en un espectro. La dispersión de la luz por un prisma radica en el principio de la refracción de la luz. Los rayos que inciden en el prisma bajo cierto ángulo y que atraviesan el prisma son refractados hacia la normal de la superficie. Esta refracción varía conforme la longitud de onda de los rayos. Así los rayos al final rojo del espectro serán menos curvos que aquellos del recorrido violeta.

Otro elemento dispersante de un monocromador es una red de difracción, que consiste en un gran número de líneas guías paralelas, igualmente espaciadas sobre una superficie. La dispersión por una red de difracción es lineal, por lo tanto sólo dos longitudes de onda diferentes deben verificarse para validar la exactitud de las longitudes de onda.

### 1.4.3

C

#### Celda de Absorción

También llamada cubeta, es la vasija donde se guarda el material que se quiere analizar, su posición debe ser fija y tener dimensiones constantes, estas vasijas existen en distintos materiales y para diferentes volúmenes de muestra y deben ser translúcidas en el margen de la longitud de onda que se produce la medición. Por lo regular están construidas de cuarzo

cuando se necesita hacer mediciones en el margen ultra violeta (200 a 400 nm), vidrio óptico para el margen visible (400 a 700 nm.), y de sales alcalinas para el margen infrarrojo

#### 1.4.4

F

##### **oto detector**

Las fotocélulas son detectores que consisten en una lámina de cobre o hierro sobre el cual se ha colocado una lámina semiconductora de óxido cuproso o selenio. Esta capa está cubierta por una lámina de metal transparente que sirve como electrodo colector. A medida que el destello pasa a través de este electrodo hacia la placa semiconductora, se induce un flujo de electrones en la placa y puede medirse en el amperímetro. Estos detectores son resistentes, relativamente económicos y sensibles desde la región ultravioleta hasta los 1000 nm. No se necesita fuente de poder externa, la fotocorriente producida es directamente proporcional a la intensidad de la energía radiante.

El tubo fotomultiplicador. Es un tubo electrónico capaz de amplificar significativamente la corriente. El cátodo está fabricado de un metal sensible a la luz, que puede absorber energía radiante y liberar electrones en forma proporcional a la energía radiante que choca contra la superficie del metal sensible a la luz. Estas superficies varían en su respuesta a la luz de diferentes longitudes de onda y así también en la sensibilidad del tubo fotomultiplicador. Los electrones producidos por el primer estado de energía van a una segunda superficie, donde cada electrón produce entre cuatro a seis electrones adicionales. Los electrones del segundo estado energético se dirigen a otro estado, donde nuevamente producen entre cuatro a seis electrones. En los tubos fotomultiplicadores actuales están presentes hasta 15 estados (o dínodos). Los tubos fotomultiplicadores tienen un tiempo de respuesta rápido, son muy sensibles y no muestran efectos de fatiga como otros detectores.

Los fotodiodos. Son semiconductores que cuando son impactados por la luz cambian su voltaje de carga (usualmente 5 V). Los cambios de voltaje son transformados en corriente

y de esa manera son cuantificados. Un fotodiodo está compuesto por una matriz bidimensional de cientos de finos semiconductores colocados muy cercanos entre sí. La luz del instrumento se dispersa por la red de difracción o prisma dentro del fotodiodo. Cualquier posición o diodo en esta configuración está calibrado para corresponder con una longitud de onda específica. Cada diodo se examina y el cambio electrónico resultante es calculado para ser proporcional a la absorción. El espectro completo es registrado en milisegundos.

#### 1.4.5

**D**

#### **Dispositivos de Salida**

Este dispositivo puede ser cualquiera que nos permita visualizar y emitir los datos o resultados de una prueba. Existe una gran variedad entre analógicos y digitales que nos permite leer los resultados e imprimirlos, por ejemplo el despliegue visual, el monitor, la impresora, etc.

## *Capítulo 2*

### **ANÁLISIS DE LOS DIAGRAMAS DE UN ESPECTROFOTÓMETRO AUTOMATIZADO.**

#### **2.1 Diagrama de Bloques General**

La figura 2.1 presenta el diagrama de bloques del sistema eléctrico del analizador automatizado de Hitachi, modelo 704.

La **unidad de cpu**, comanda todas las interfaces, procesos, datos, y comunicaciones con alguna computadora externa.

La **unidad de control**, comanda todos los mecanismos del equipo.

La unidad **relay de estado sólido AC**, maneja los motores AC y válvulas solenoides.

El **controlador de temperatura**, comanda la temperatura del baño de reacción.

El **amplificador logarítmico**, se encarga de realizar la conversión logarítmica y amplificar la señal del fotómetro.

El **detector de falla de poder**, se encarga de detectar las caídas de voltaje y cortes de corriente.

Los **dispositivos de entrada y salida**, que son impresora, controlador de discos flexibles, monitor, panel de teclado.

La **unidad de poder DC**, o también llamada fuente de voltaje de corriente continúa.

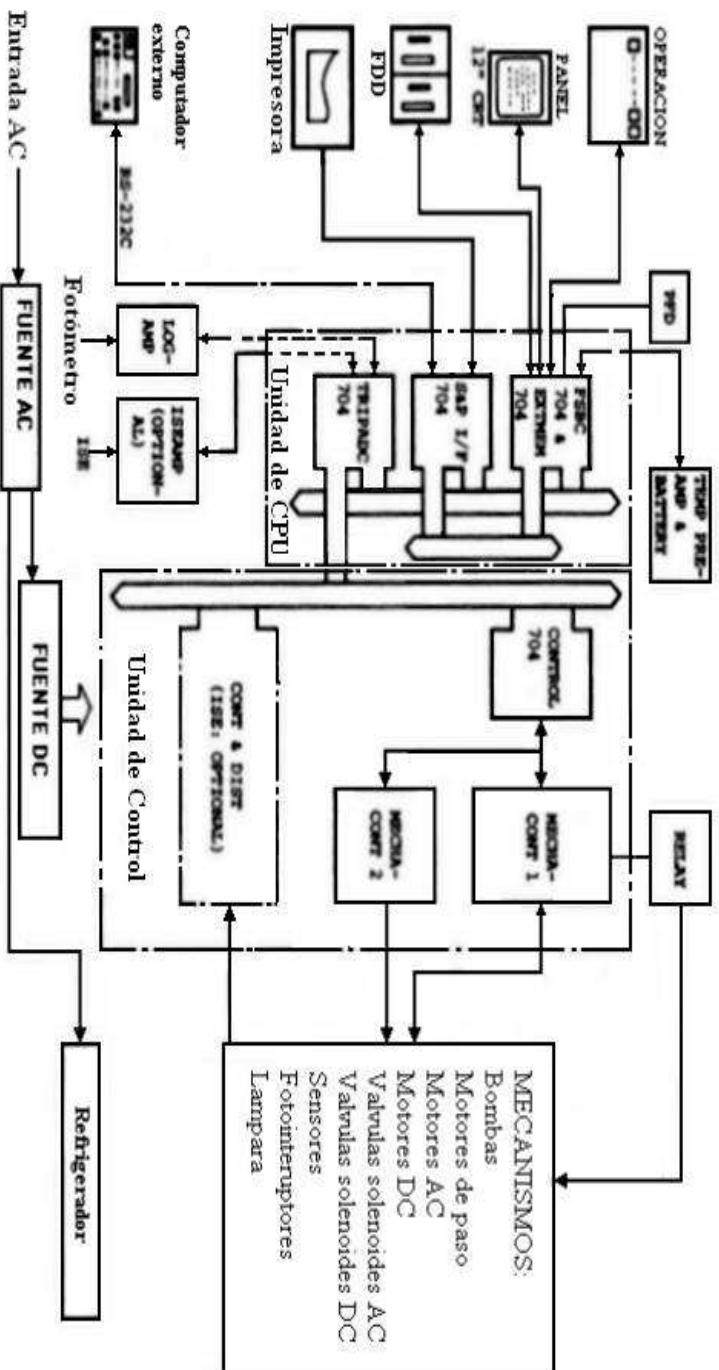


FIG. 2.1: Diagrama de bloques general



## 2.2 Diagramas de bloques de CPU

Esta unidad consiste en un CPU sirviendo como centro de mando, varias interfaces y convertidores analógicos a digitales. Controla por entero al analizador, como también se encarga de los datos de los procesos y de la comunicación de los mismos con alguna computadora destinada a organizarlos.

La unidad de CPU, como se aprecia en el diagrama de la [figura 2.2](#), está compuesto de las siguientes tarjetas FSBC 704, EXTMEN 704, S&P I/F, y TRIPADC 704; cuyas funciones son:

La tarjeta FSBC 704, no es otra cosa que una computadora muy simple, con tan solo una controladora de disco flexible. Es la principal tarjeta del equipo y entre sus elementos más importantes tenemos:

CPU 68 A 09 con un reloj de 1MHz, y sus señales externas que son los buffers de datos, direcciones y control.

1 ROM (IPL) de 8 k bytes para cargar e iniciar el programa

1 RAM 256 K bytes para programa y datos.

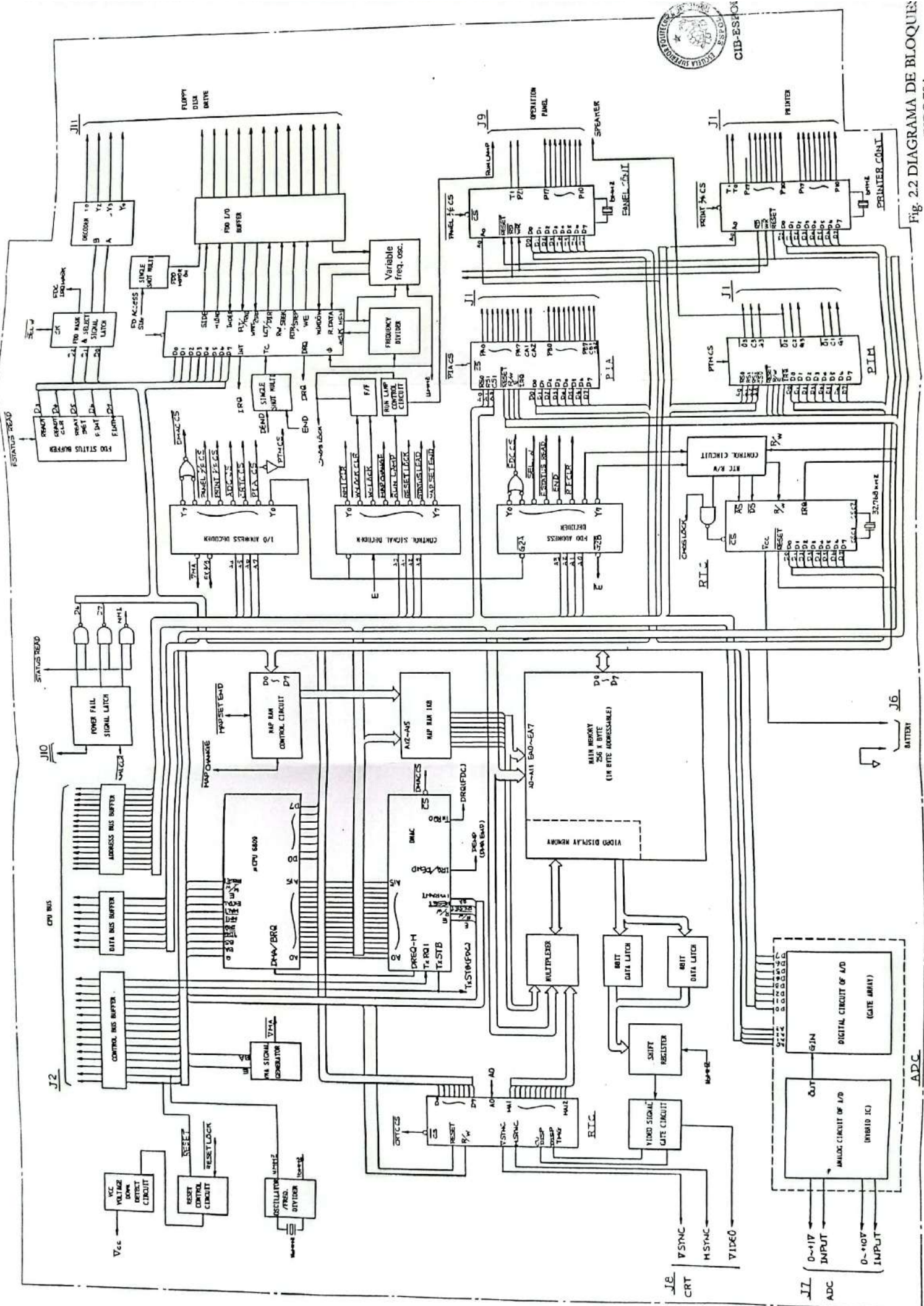


Fig. 2.2 DIAGRAMA DE BLOQUE FSBC 704

El circuito de extensión de memoria EXTMEN 704, que usa un sistema de extensión de direcciones, figura 2.3, cuya función es expandir las cuatro líneas de dirección de la CPU en

ocho, mediante un conversor de memoria. De acuerdo a la señal de control de la CPU, el conversor de memoria es accionado mediante un latch de conversión. De esta forma se puede acceder a 1 M byte de memoria. Con estas direcciones extendidas se accede a una Ram de 512 K bytes, diagrama de la figura 2.4, lográndose una extensión de memoria.

El circuito S&P I/F no es otra cosa que las interfaces serial y de impresora. Como se muestra en la figura 2.5.

La tarjeta TRIPADC tiene tres canales conversores A/D, un bus I/O y un bus I/F exclusivos para control de mecanismo, como se observa en el diagrama de la figura 2.6. El conversor A/D consiste en un integrado híbrido compuesto por un arreglo de puertas digitales, el número de bits que usa es 16, 15 bits son convertidos y un bit es usado para overflow. Se usa dos canales de conversión de A/D para el fotómetro. Los buses I/O e I/F son interfaces exclusivas para los mecanismos de control, constituidas por líneas de datos, dirección y control, siendo de 8 bits cada grupo.

### 2.3 Diagramas de unidad de control

La unidad de control maneja varios mecanismos de acuerdo a las instrucciones de la CPU y está compuesto de las siguientes tarjetas:

CONTROL 704, MECHA-CONT 1 y MECHA CONT 2

La tarjeta control 704, maneja las entradas y salidas de datos, como se ve en el diagrama de la figura 2.7, usa alrededor de 10 microprocesadores para:

- El control de motores de paso de alto rendimiento, aquí se encuentra el control del motor del disco de muestras, motor que sube y baja la pipeta de muestra, la del motor que rota la pipeta de muestra, el control del motor que rota el disco de reacción, el control de la rotación del disco de reactivos, el control de rotación de la pipeta de reactivo, el control del motor que sube y baja la pipeta de reactivo.
- Para el control de motores de paso de velocidad constante, aquí están los controles para los motores de las jeringas de muestra y reactivo.
- Dos controladores para los mecanismos de lavado y agitación como también para la detección de inicio del disco de reacción.
- 

La tarjeta MECHA-CONT 1, es un circuito de control que trabaja de acuerdo con las señales de la tarjeta CONTROL 704, la figura 2.8 muestra el diagrama de bloques de ésta tarjeta. El circuito PM Driver se usa para el control de la rotación y movimiento de subida y bajada de la pipeta de reactivo, rotación del disco de reacción y rotación del disco de reactivo. El circuito DC Motor driver, se usa para el control del movimiento del agitador como también la rotación del mismo. El circuito detector Liquid level se usa para el control del nivel de líquido en la pipeta de reactivo y el nivel de agua en el baño de incubación. El circuito detector de falla de poder DC para saber cuando falla la fuente de poder de 5 V, +12 V, -12 V, 24V.

La tarjeta MECHA-CONT 2, es muy similar a la tarjeta MECHA-CONT 1, donde PM Driver controla la rotación, subida y bajada de la pipeta de muestra y rotación del disco de muestra; el control de motor de paso sirve para el control de las jeringas de muestra y reactivo; la solenoid valve driver, sirve para control de la bomba de extran y válvulas solenoides; el circuito detector de nivel de liquido, para uso de la pipeta de muestra y tanque de desechos; y el modulo comparador, usado para los foto interruptores, sensores de agua destilada, sensores de nivel de desechos. La figura 2.9 muestra éste diagrama.

## 2.4 Diagrama de control de temperatura

La figura 2.10 muestra el diagrama del control de temperatura, consta de un circuito preamplificador, un circuito de corriente constante, un circuito de voltajes de referencia, que sirve para calibrar las temperaturas de 25, 30 y 37 grados centígrados.

La señal que emite el sensor de temperatura es amplificada en esta tarjeta y convertida en digital en la tarjeta FSBC, las señales de esta tarjeta controlan el encendido y apagado del calentador así como también el mantenimiento de la temperatura constante en el baño de incubación.

La señal de temperatura en esta tarjeta es calibrada de tal manera que 0V corresponda a 0°C y 10 V corresponda a 40°C.

## 2.5 Diagrama de amplificador logarítmico

El diagrama muestra, [figura 2.11](#), once amplificadores logarítmicos correspondientes a determinada longitud de onda, dos multiplexores y voltajes de referencia para la calibración del convertidor analógico digital.

Simultáneamente en ésta tarjeta se habilitan dos longitudes de onda usándose dos multiplexores, cuyas salidas se convertirán en digitales en la tarjeta TRIPADC.

## 2.6 Detector de caídas de voltaje

Esta tarjeta detecta caídas de voltaje alrededor de un 15% del voltaje de línea, en un tiempo de 18 milisegundos, y envía una señal de falla a la CPU. La [figura 2.12](#) muestra el diagrama de bloques de esta tarjeta, consta de un rectificador, un comparador, un foto acoplador para aislamiento de la línea AC y un multivibrador de single-shot.



## 2.7 Explicación del sistema

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 2.13 presenta un bosquejo de una vista exterior del equipo y, la figura 2.14, ilustra las partes funcionales; aquí se observa que en la unidad de operación tenemos:

- 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, consiste en el mecanismo 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, 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 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 éste 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, 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, se encarga de mantener la temperatura de las cubetas de reacción a 37 grados centígrados. El agua de éste baño debe de estar en constante circulación.
- 13) Un teclado de dicado para el ingreso de texto, utiliza 5 teclas de función, 30 teclas para selecciones de test, 6 teclas para selección de trabajo y 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 los test procesados.

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

En la unidad de control tenemos:

- 17) Conversor logarítmico y conversor digital, el primero convierte la señal del espectrofotómetro en valores de absorbancia, el segundo convierte la señal que entrega el conversor 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, está 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, 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 muestra más 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 2.15 nos

muestra ésta secuencia, y la figura 2.16 nos da la idea del paso de la muestra por el disco de reacción. La figura 2.17 y 2,18 son un diagrama de tiempo del trabajo de los mecanismos principales del equipo.

## **2.8 Diagrama de Flujo Hidráulico**

La figura 2.19 nos muestra en detalle el diagrama de flujo de líquidos en el equipo.

No.	UNIDAD	COMENTARIO
1	Disco de reacción	El disco es movido por un motor de paso, hace un alto cada ciclo y arranca en la posición de home después de ser inicializado el equipo.
2	Disco de muestra	El disco es controlado por un motor de paso. Este disco rota en la dirección donde el movimiento sería menor que si rotara en el otro sentido.
3	Disco de reactivo	El disco es controlado por un motor de paso, su movimiento es similar al del disco de muestra.
4	Pipeta de muestra	El movimiento de rotación, hacia arriba y abajo son controlados por medio de motores de paso.
5	Jeringa de muestra	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 uL de aire son usados para prevenir una difusión de la muestra con agua destilada.</li> <li>• 10 uL de muestra son usados para prevenir dilución de la muestra con agua destilada (muestra muestra).</li> <li>• 1 uL de muestra es eliminada para evitar diferencias entre la cantidad absorbida y la cantidad que se descreaga, esto puede ocurrir por el movimiento de la pipeta.</li> </ul>
6	Lavado externo de la pipeta de muestra Valvula solenoide para agua N° 14	Esta operación es permitida al final del pipeteo de la muestra
7	Lavado interno de la pipeta de muestra Valvula solenoide para agua N° 2	Esta operación es permitida al final del pipeteo de la muestra
8	Pipeta de reactivo	Los movimientos de rotación, arriba y abajo son controlados por motores de paso.
9	Jeringa de reactivo	15 uL de aire son usados para prevenir difusión de reactivo con agua destilada. 10 uL de aire son succionados 1u ante dos segundos para prevenir el goteo cuando la pipeta se mueve. 10 uL de reactivo son usados como excedente para evitar perdida por movimiento de la pipeta.

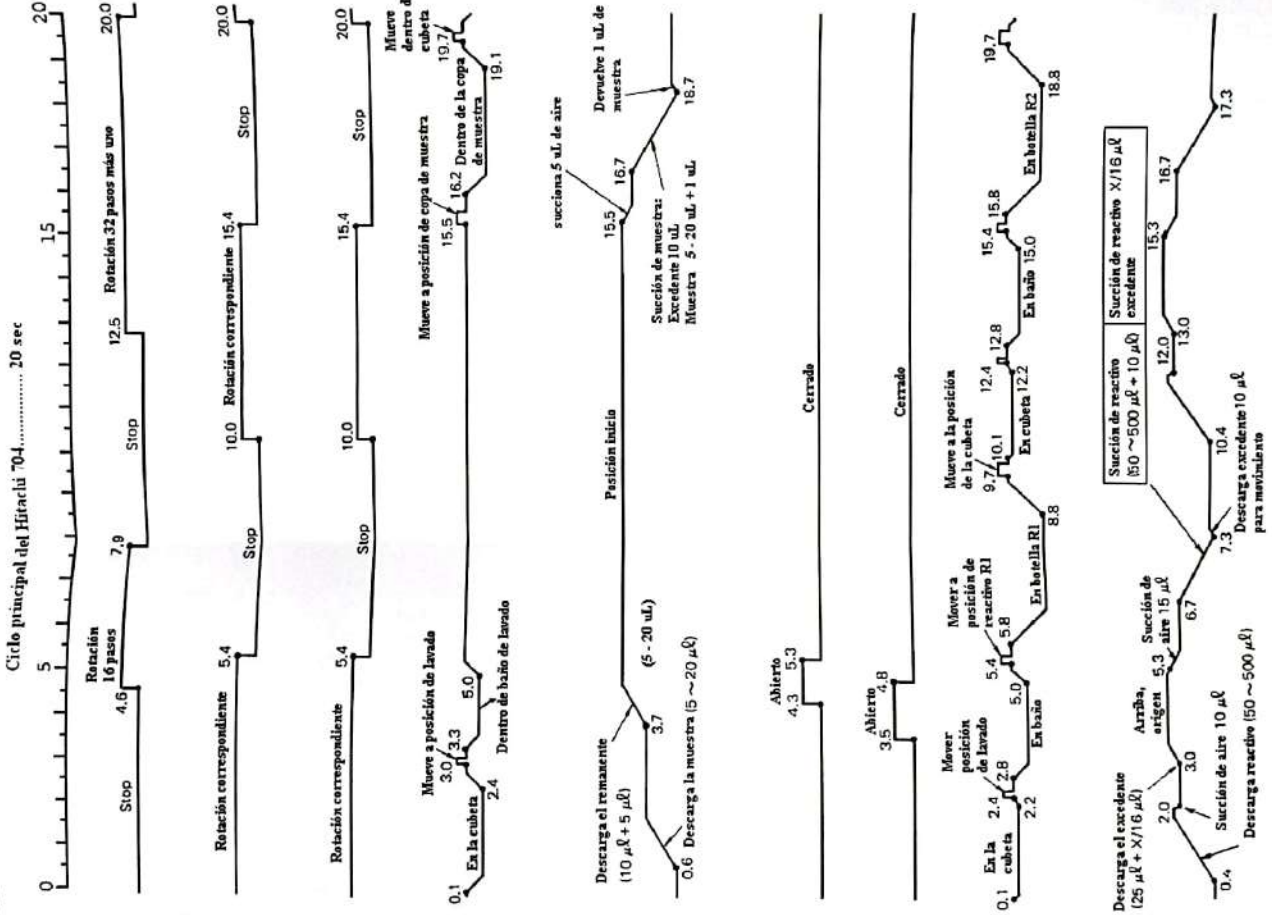


FIG. 2.1.7: DIAGRAMA DE TIEMPO DEL MECANISMO PRINCIPAL



HE 6204 LP #4

BRI 10K

EXTMEM 704  
P/N 704-5031

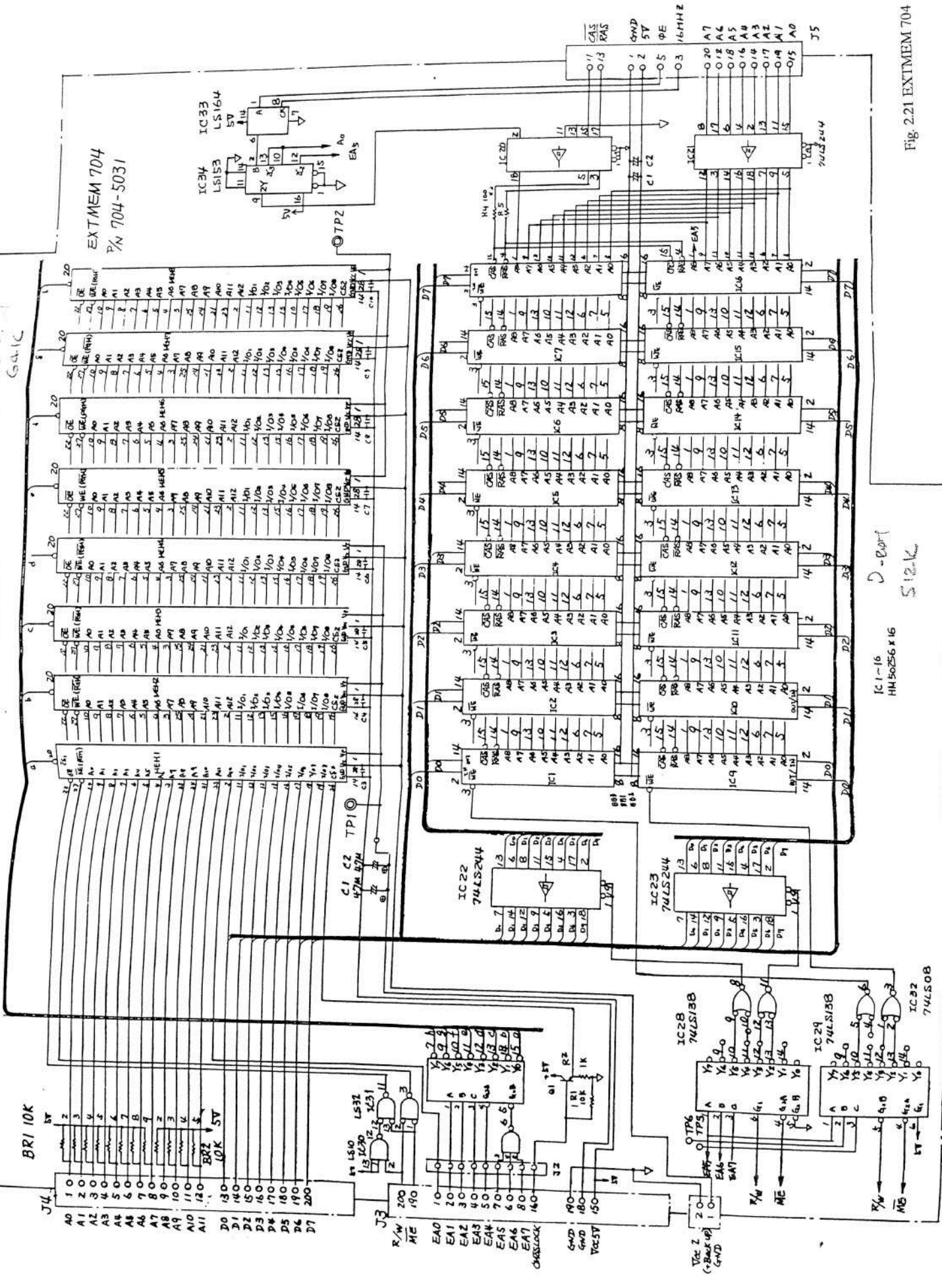


Fig. 2.21 EXTMEM 704

D-Board  
512K

IC1-16  
HM50256 x 16

IC28  
74LS138

IC29  
74LS153

IC32  
74LS153

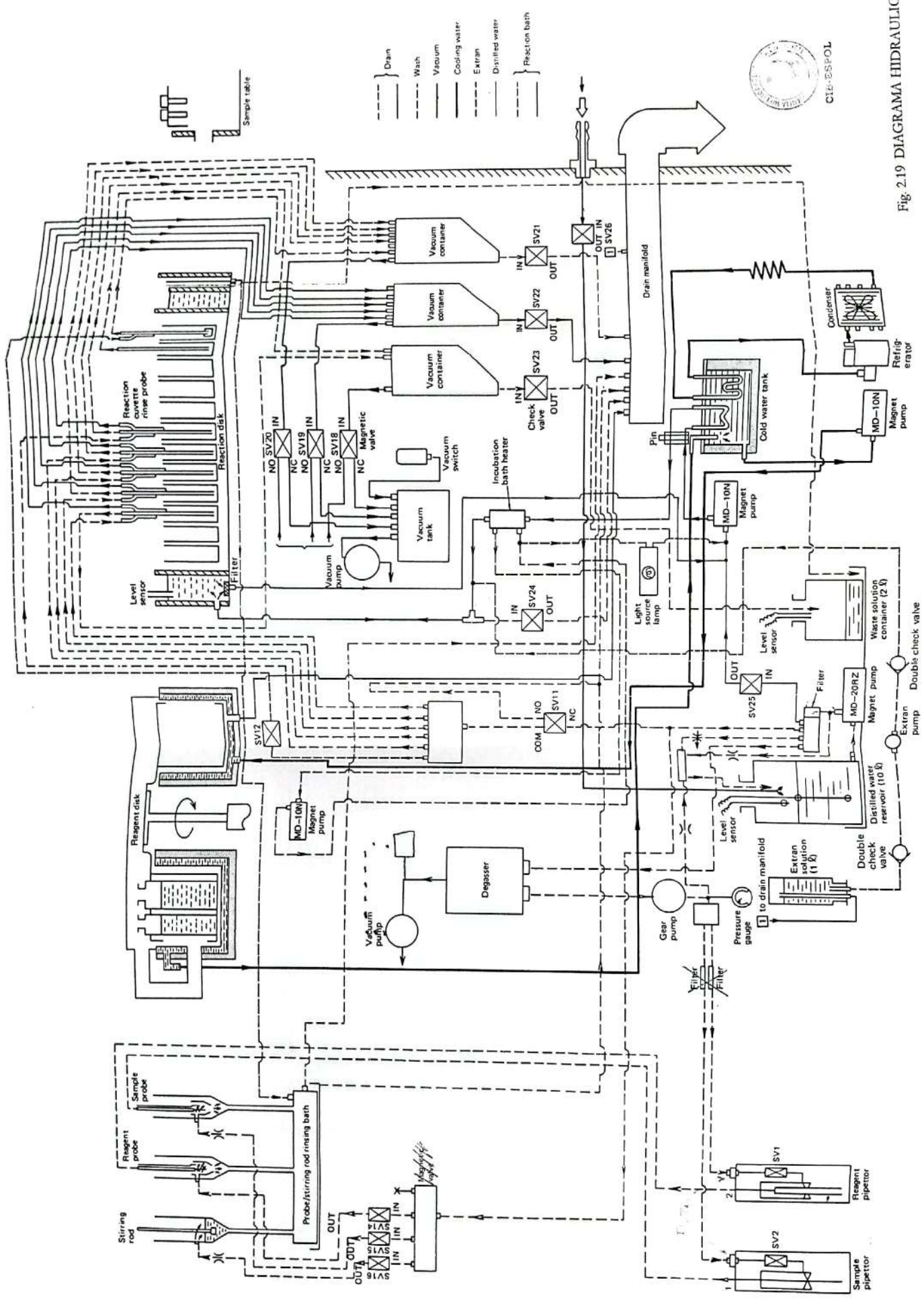


Fig. 2.19 DIAGRAMA HIDRAULICO



## 2.9 Diagramas eléctricos

Las figuras que se presentan a continuación nos muestran los diferentes diagramas eléctricos del equipo.

Fig. 2.20 FSBC 704

Fig. 2.21 EXTMEM 704

Fig. 2.22 S&P I/F

Fig. 2.23 TRIPADC 704

Fig. 2.24 MOTHER BOARD 1

Fig. 2.25 CONTROL 704 Circuito (1)

Fig. 2.26 CONTROL 704 Circuito (2)

Fig. 2.27 CONTROL 704 Circuito (3)

Fig. 2.28 MECHA-CONT 1

Fig. 2.29 MECHA-CONT 2

Fig. 2.30 STEPPING MOTOR DRIVER

Fig. 2.31 DCPFD

Fig. 2.32 MDI MODULE

Fig. 2.33 EXT-CONT

Fig. 2.34 MOTHER BOARD 2

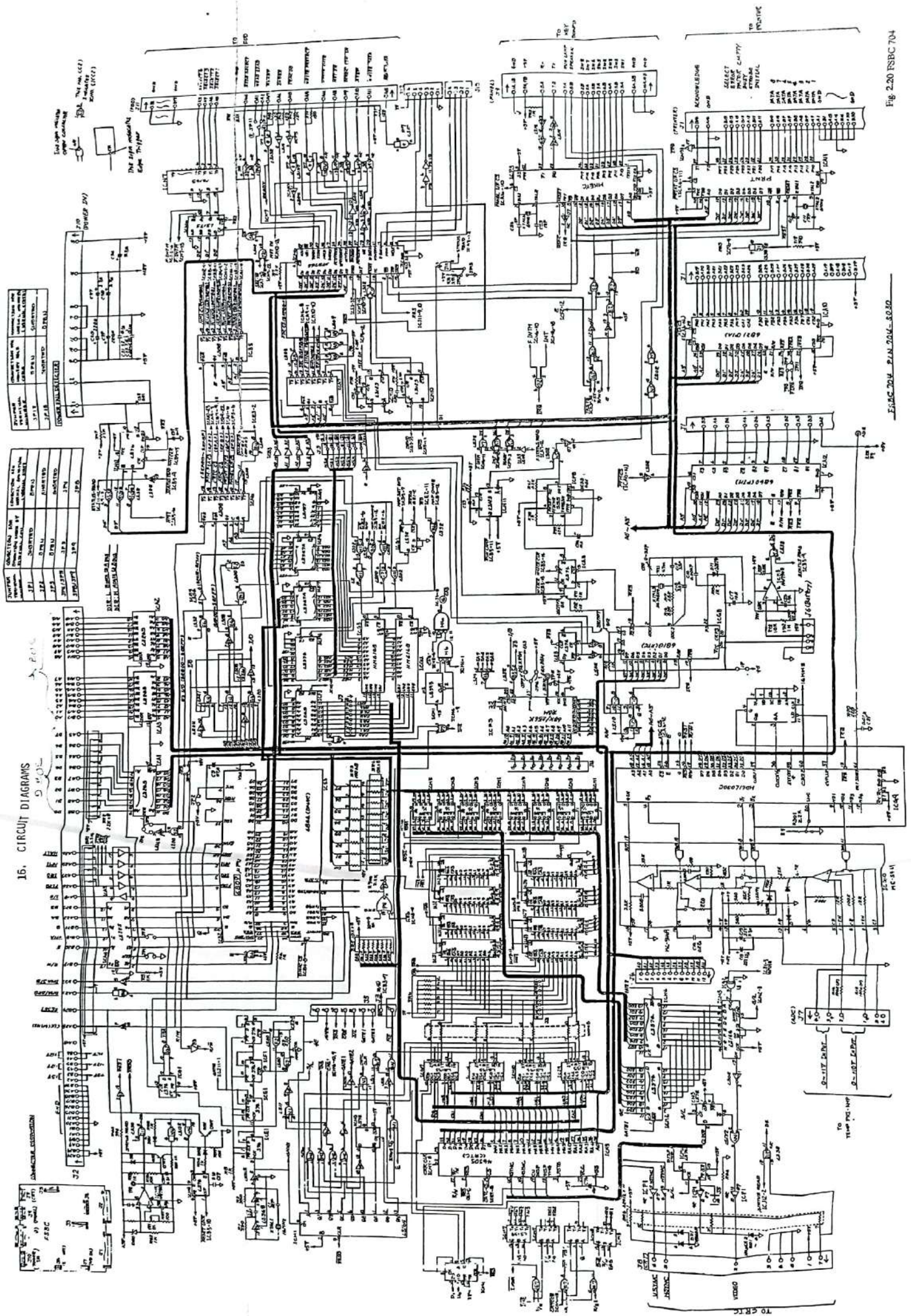
Fig. 2.35 RELAY

Fig. 2.36 TEMP AMP

Fig. 2.37 LOG AMP 4

Fig. 2.38 PFD 4

### 16. CIRCUIT DIAGRAMS



ESAC 204 P.A. 204-5030

Fig. 2-20 PSBC 704

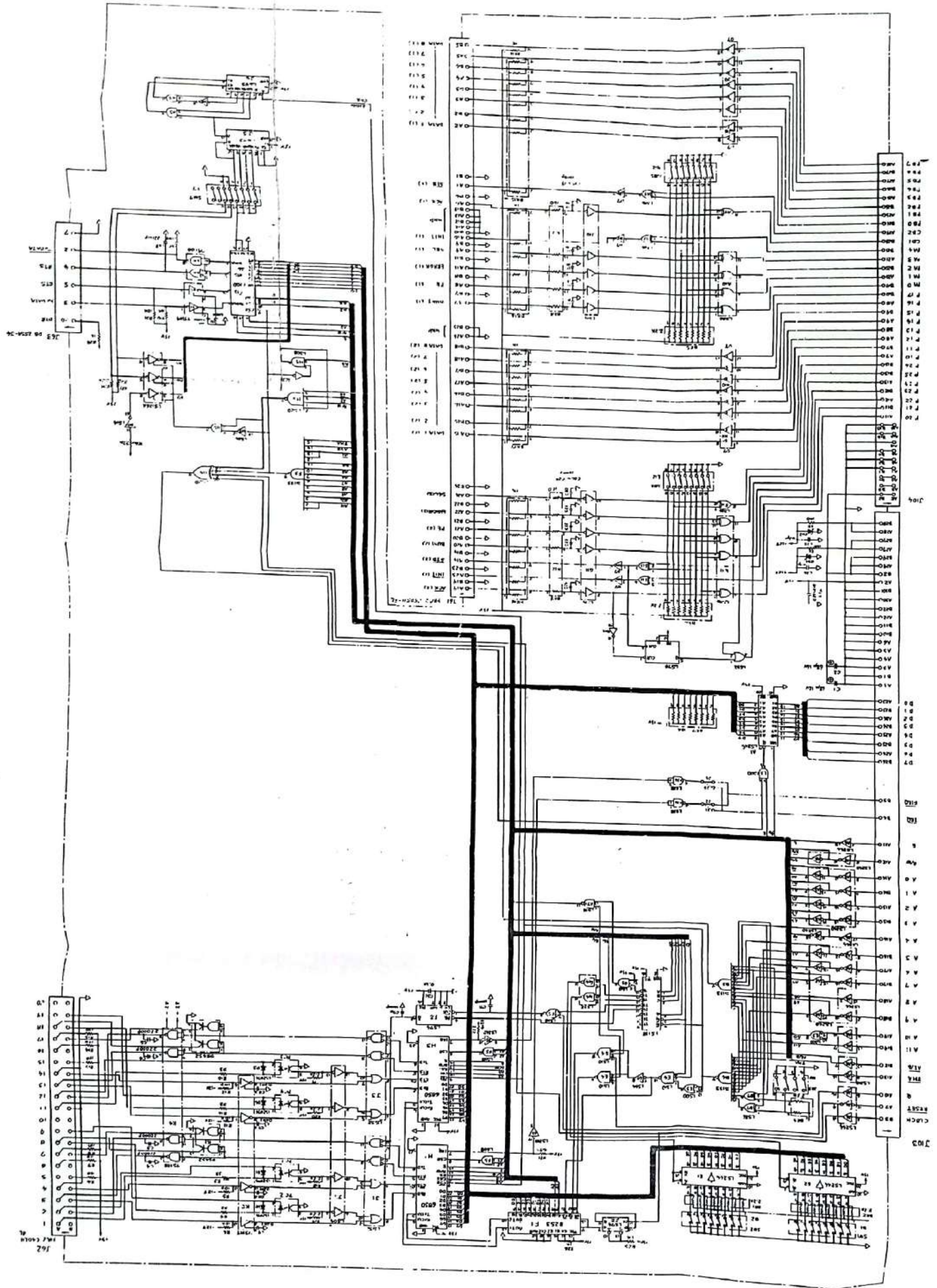


Fig. 2.22.8&P1/F

J101 J102 J103 J104 J105 J106 J107 J108

Pin	DESCRIPTION	Pin	DESCRIPTION
1	15V	1	15V
2	15V	2	15V
3	15V	3	15V
4	15V	4	15V
5	15V	5	15V
6	15V	6	15V
7	15V	7	15V
8	15V	8	15V
9	15V	9	15V
10	15V	10	15V
11	15V	11	15V
12	15V	12	15V
13	15V	13	15V
14	15V	14	15V
15	15V	15	15V
16	15V	16	15V
17	15V	17	15V
18	15V	18	15V
19	15V	19	15V
20	15V	20	15V
21	15V	21	15V
22	15V	22	15V
23	15V	23	15V
24	15V	24	15V
25	15V	25	15V
26	15V	26	15V
27	15V	27	15V
28	15V	28	15V
29	15V	29	15V
30	15V	30	15V
31	15V	31	15V
32	15V	32	15V
33	15V	33	15V
34	15V	34	15V
35	15V	35	15V
36	15V	36	15V
37	15V	37	15V
38	15V	38	15V
39	15V	39	15V
40	15V	40	15V

J101 J102 J103 J104 J105 J106 J107 J108

Pin	DESCRIPTION	Pin	DESCRIPTION
1	15V	1	15V
2	15V	2	15V
3	15V	3	15V
4	15V	4	15V
5	15V	5	15V
6	15V	6	15V
7	15V	7	15V
8	15V	8	15V
9	15V	9	15V
10	15V	10	15V
11	15V	11	15V
12	15V	12	15V
13	15V	13	15V
14	15V	14	15V
15	15V	15	15V
16	15V	16	15V
17	15V	17	15V
18	15V	18	15V
19	15V	19	15V
20	15V	20	15V
21	15V	21	15V
22	15V	22	15V
23	15V	23	15V
24	15V	24	15V
25	15V	25	15V
26	15V	26	15V
27	15V	27	15V
28	15V	28	15V
29	15V	29	15V
30	15V	30	15V
31	15V	31	15V
32	15V	32	15V
33	15V	33	15V
34	15V	34	15V
35	15V	35	15V
36	15V	36	15V
37	15V	37	15V
38	15V	38	15V
39	15V	39	15V
40	15V	40	15V

J101 J102 J103 J104 J105 J106 J107 J108

Pin	DESCRIPTION	Pin	DESCRIPTION
1	15V	1	15V
2	15V	2	15V
3	15V	3	15V
4	15V	4	15V
5	15V	5	15V
6	15V	6	15V
7	15V	7	15V
8	15V	8	15V
9	15V	9	15V
10	15V	10	15V
11	15V	11	15V
12	15V	12	15V
13	15V	13	15V
14	15V	14	15V
15	15V	15	15V
16	15V	16	15V
17	15V	17	15V
18	15V	18	15V
19	15V	19	15V
20	15V	20	15V
21	15V	21	15V
22	15V	22	15V
23	15V	23	15V
24	15V	24	15V
25	15V	25	15V
26	15V	26	15V
27	15V	27	15V
28	15V	28	15V
29	15V	29	15V
30	15V	30	15V
31	15V	31	15V
32	15V	32	15V
33	15V	33	15V
34	15V	34	15V
35	15V	35	15V
36	15V	36	15V
37	15V	37	15V
38	15V	38	15V
39	15V	39	15V
40	15V	40	15V

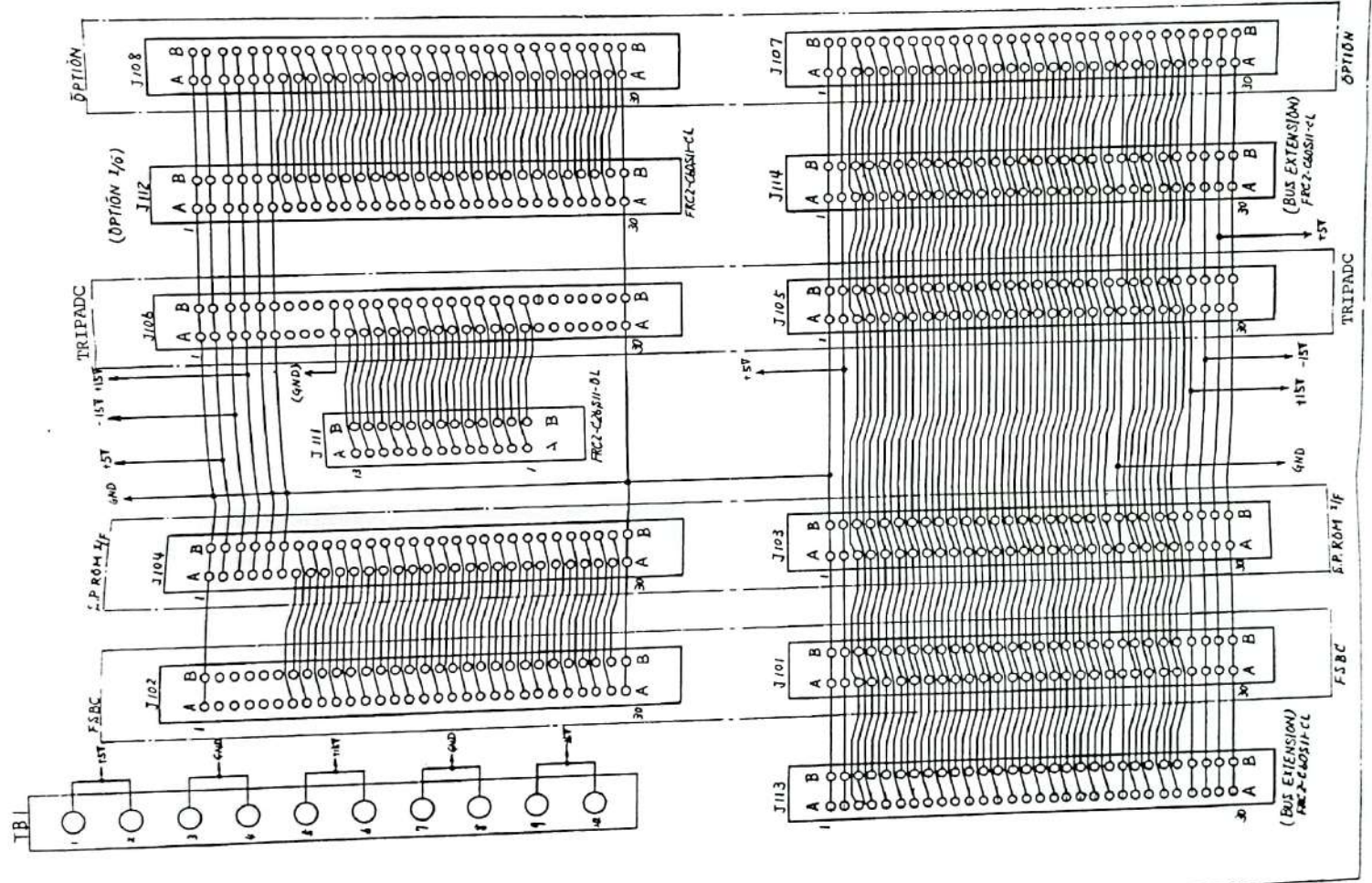


Fig. 2.24 MOTHER BOARD 1

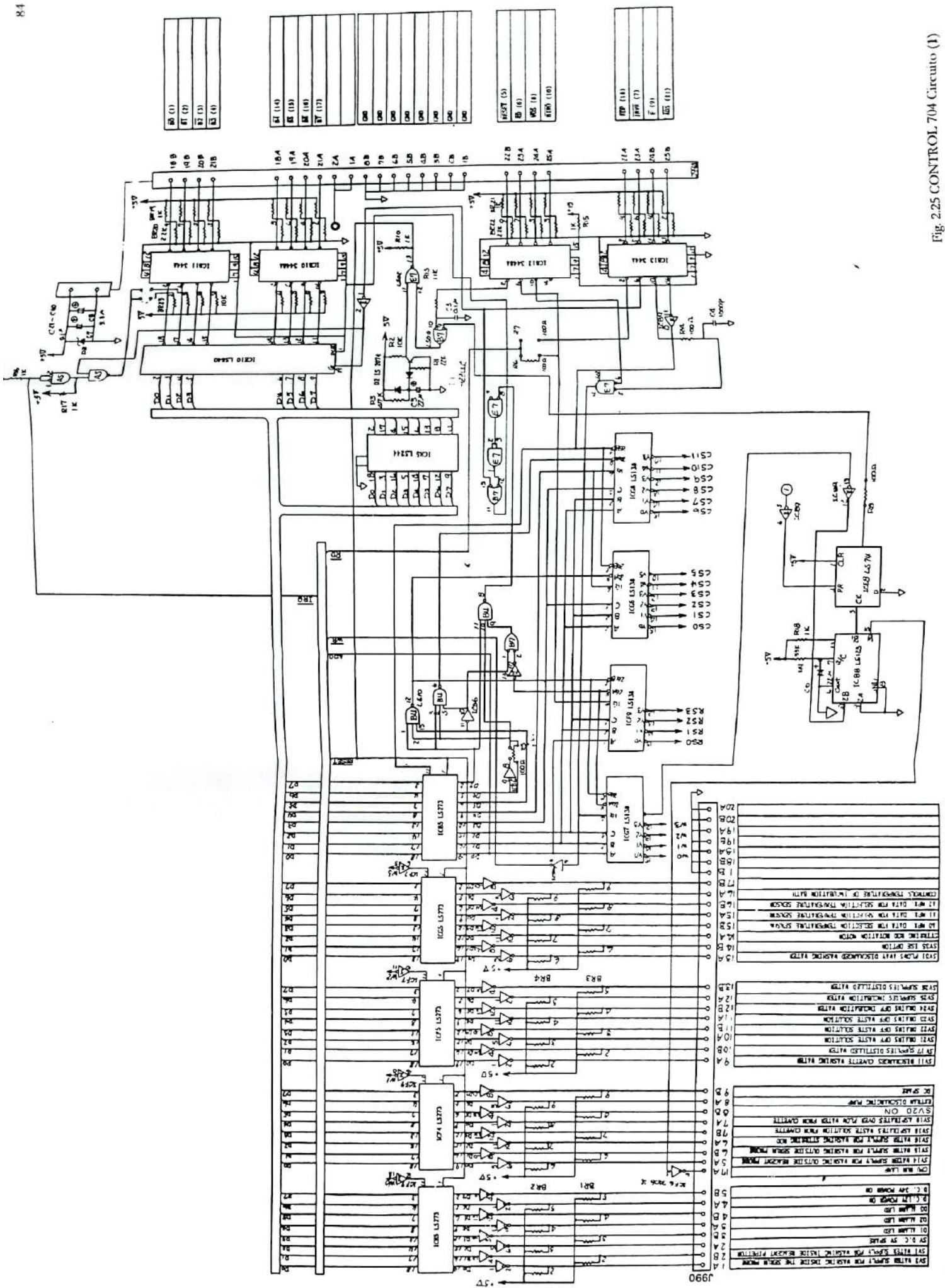


Fig. 2.25 CONTROL 704 Circuito (1)

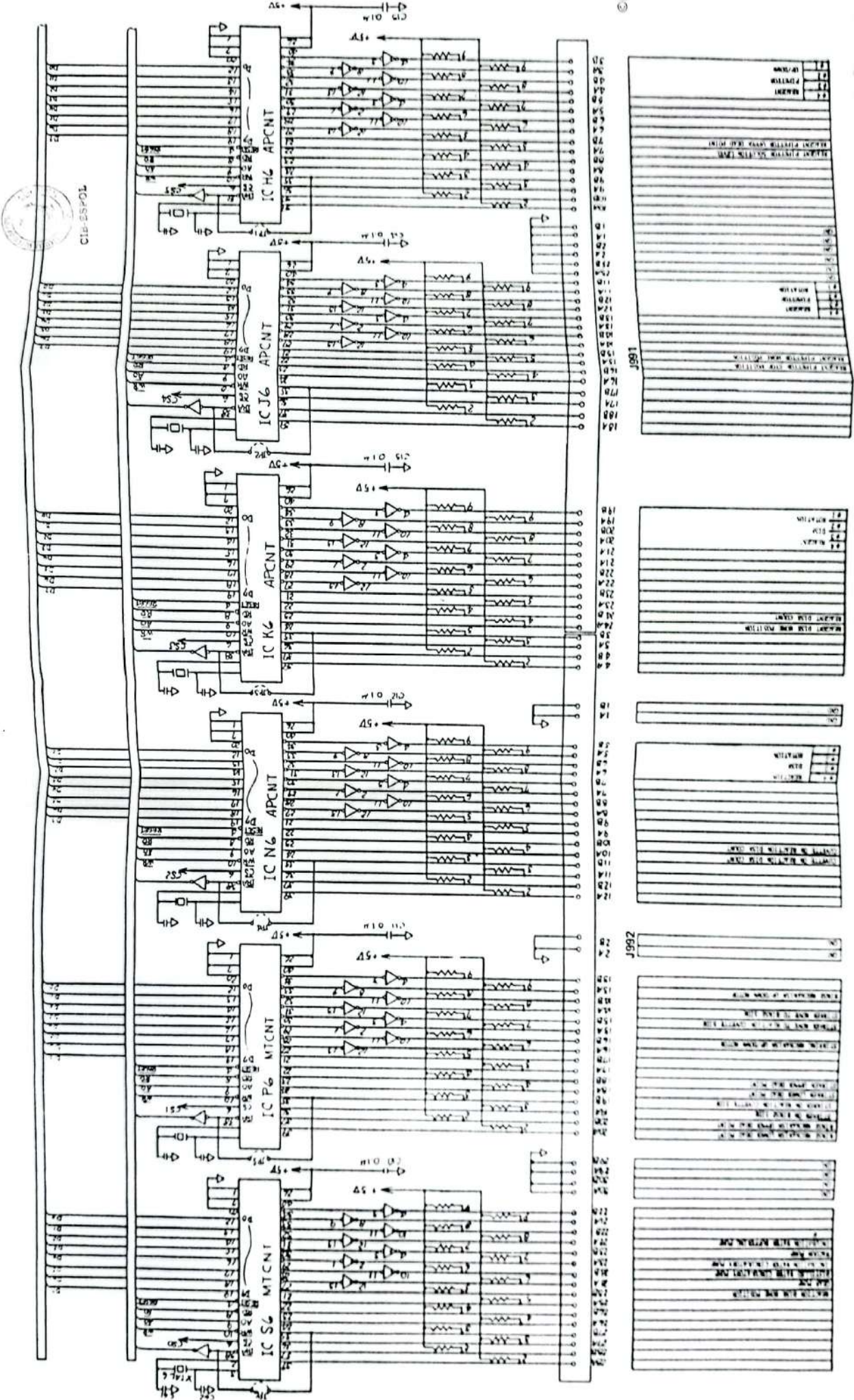


Fig. 2.26 CONTROL 704 Circuito (2)

IC	MANUFACTURER	PART NUMBER
IC S6		
IC P6		
IC N6		
IC K6		
IC J6		
IC H6		

IC	MANUFACTURER	PART NUMBER
IC S6		
IC P6		
IC N6		
IC K6		
IC J6		
IC H6		

IC	MANUFACTURER	PART NUMBER
IC S6		
IC P6		
IC N6		
IC K6		
IC J6		
IC H6		

IC	MANUFACTURER	PART NUMBER
IC S6		
IC P6		
IC N6		
IC K6		
IC J6		
IC H6		

IC	MANUFACTURER	PART NUMBER
IC S6		
IC P6		
IC N6		
IC K6		
IC J6		
IC H6		



CUBA SIPOL

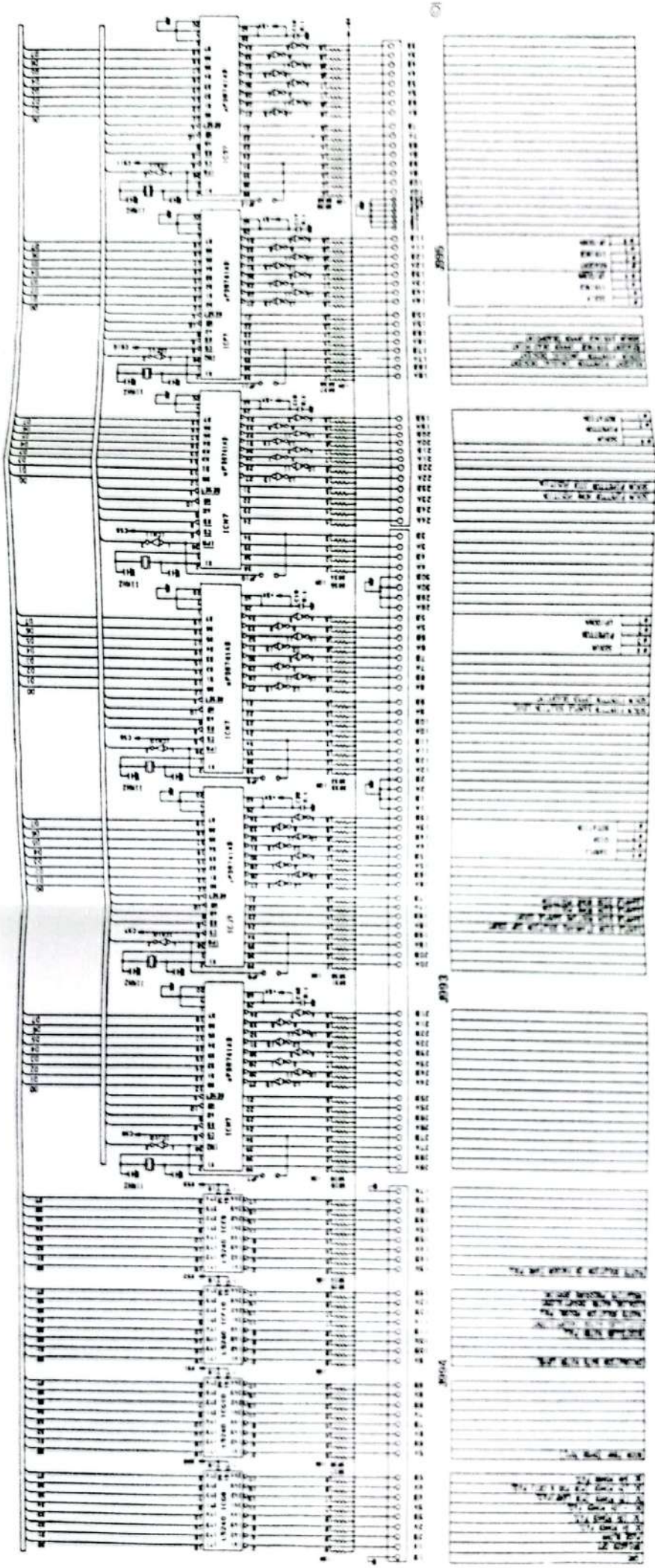
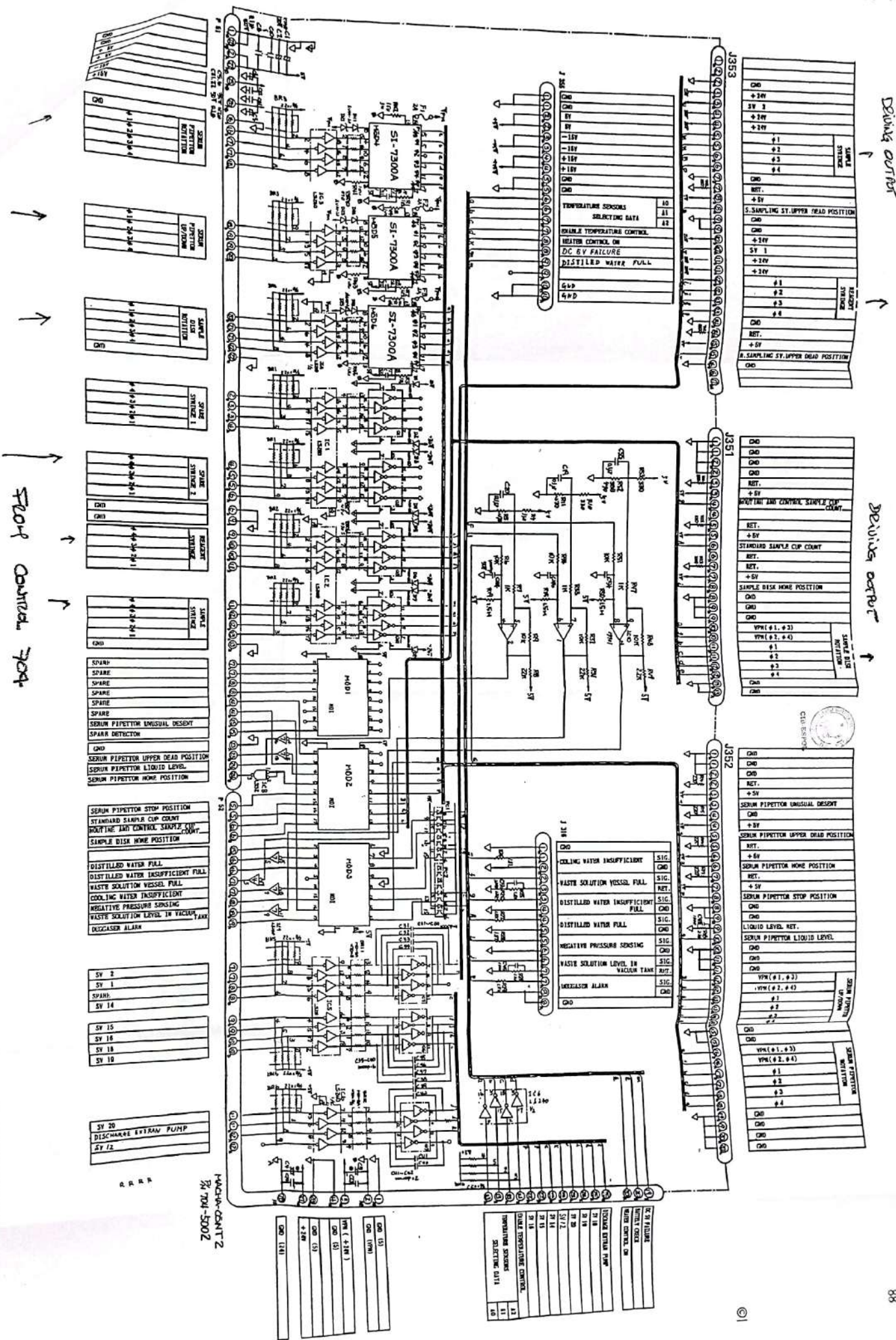


Fig. 2.27 CONTROL 704 Circuito (3)







STOP CONTROL 704

SERVING OUTPUT

SERVING OUTPUT

Fig. 2.29 MECHA-CONT 2

## 2.10 Cableado

La figura 2.39, muestra el cableado del sistema en su totalidad.

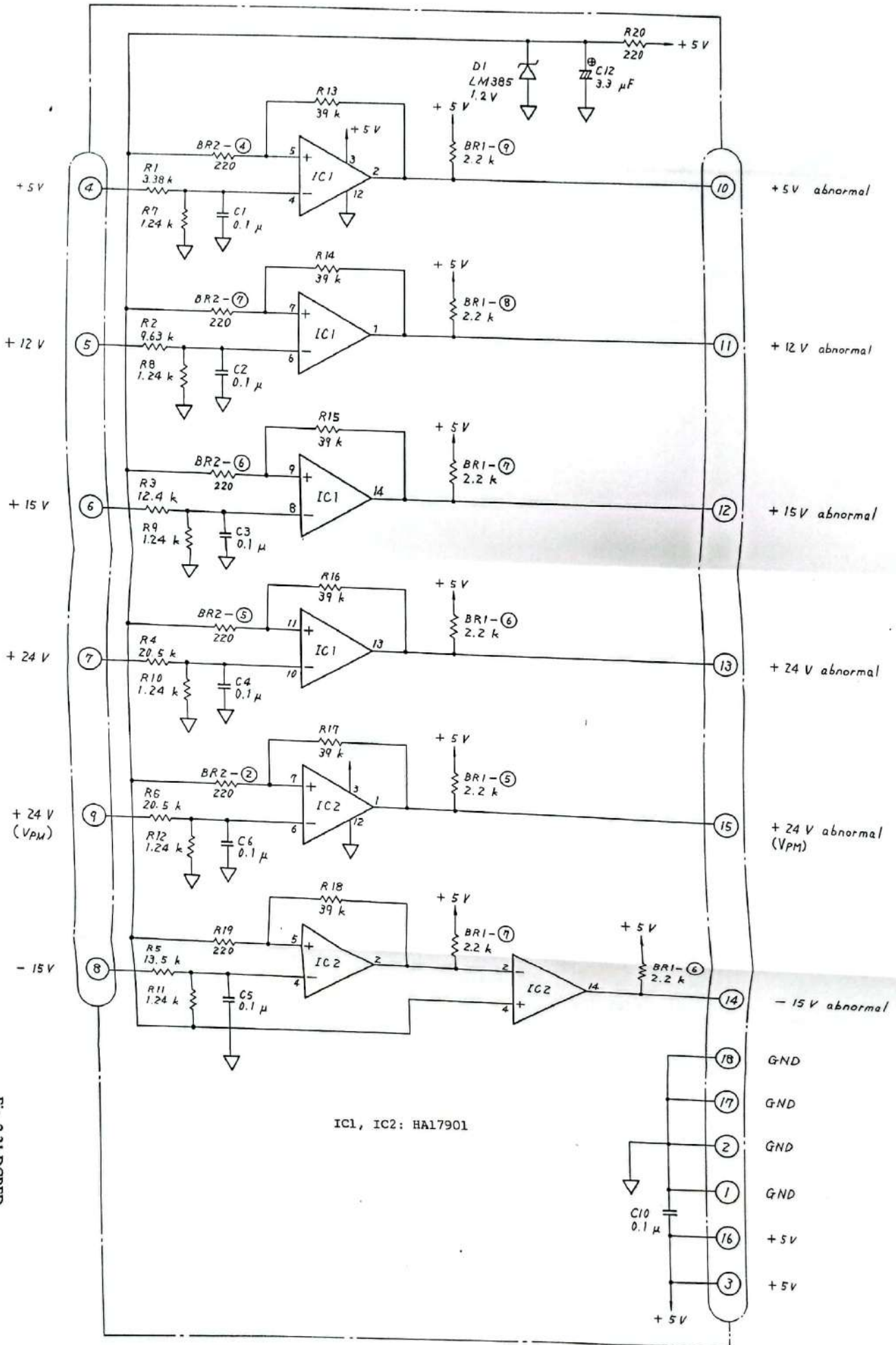
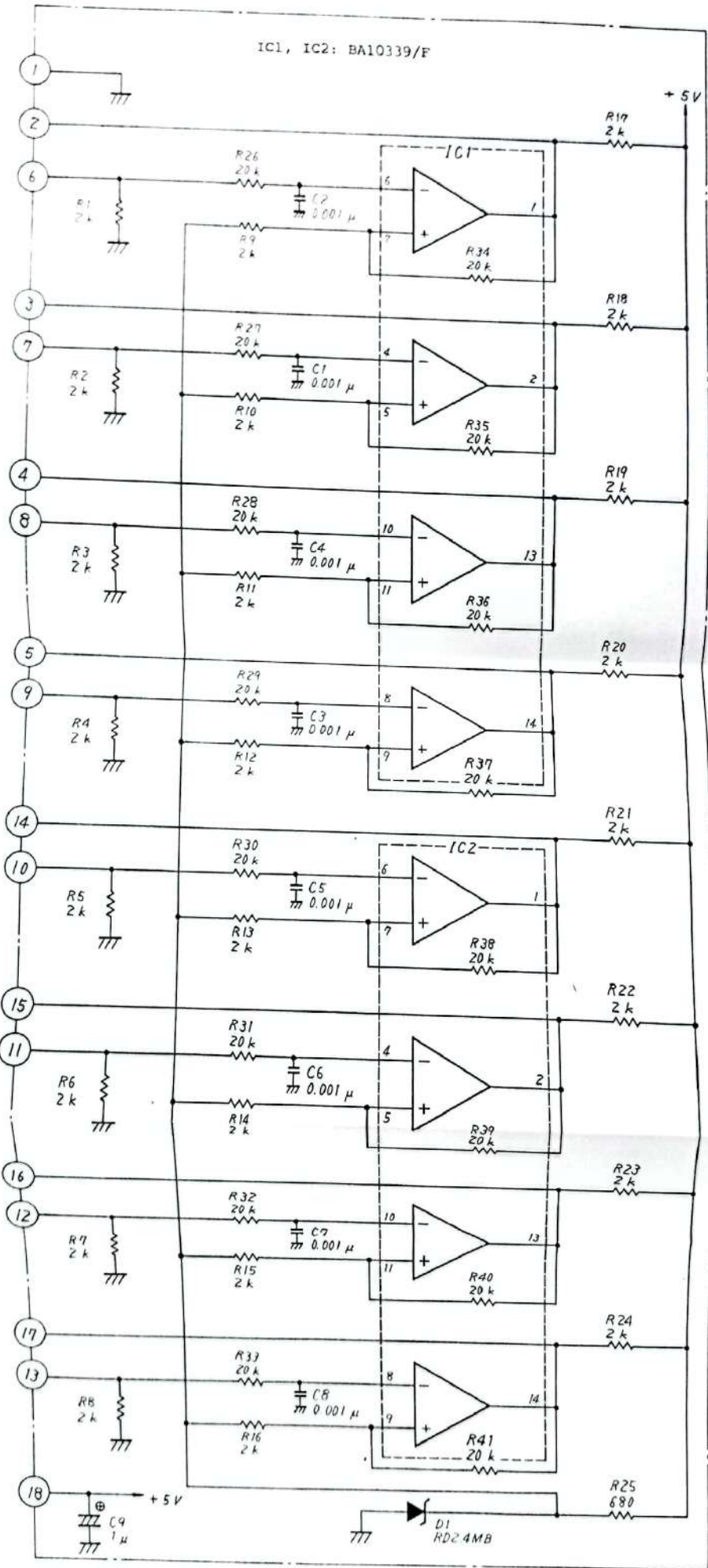


Fig. 2.31 DCPFD



CIB-ESPOL

Fig. 2.32 MDI MODULE

NOTE)

- 1. RY 2 ~ 17 : 02W103P
- 2. RY 1 : APK2044
- 3. SA 1 ~ 3 : SURGE ANSWERER EHZ-1140K061

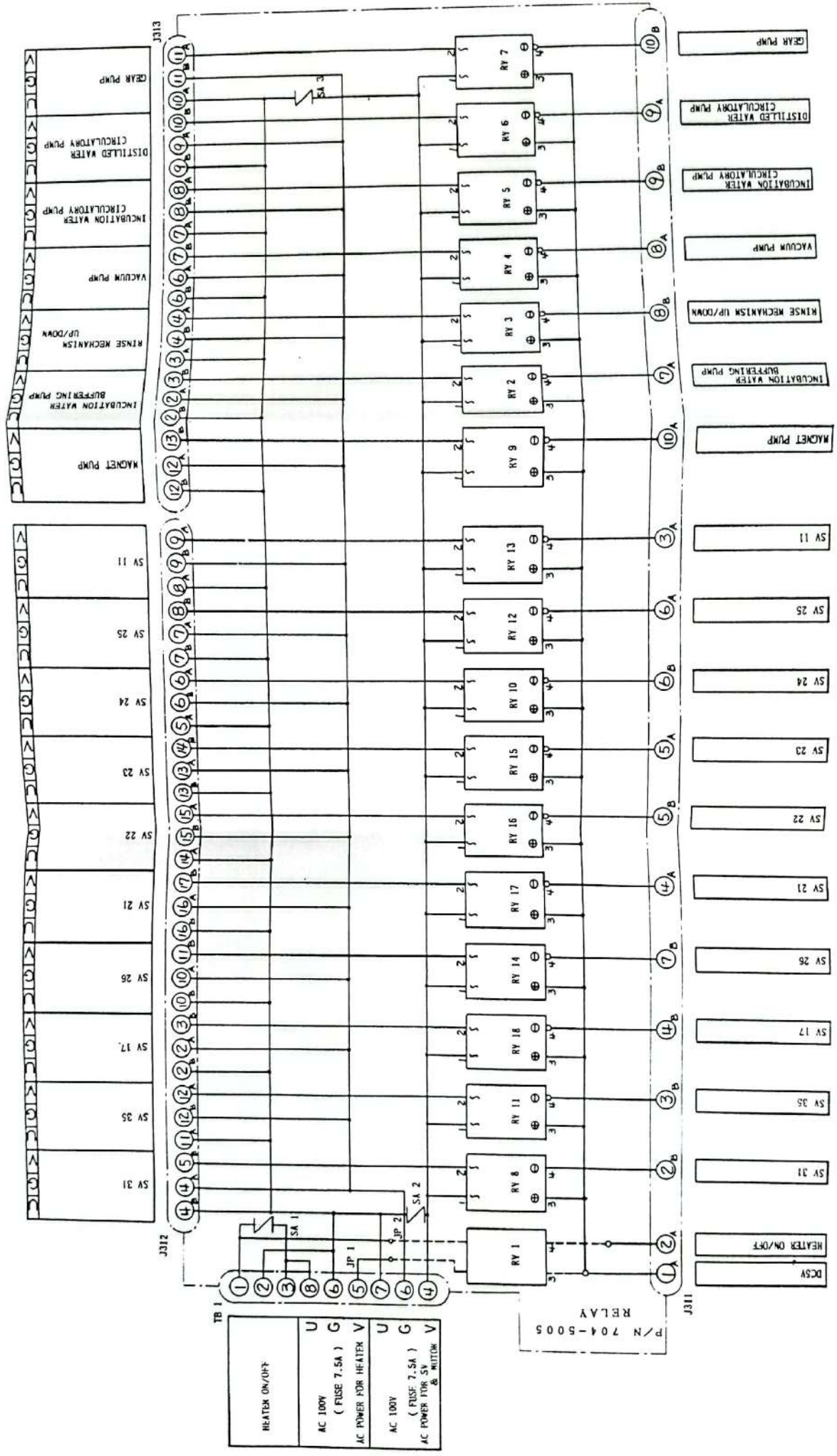
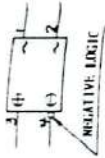


Fig. 2.35 RELAY



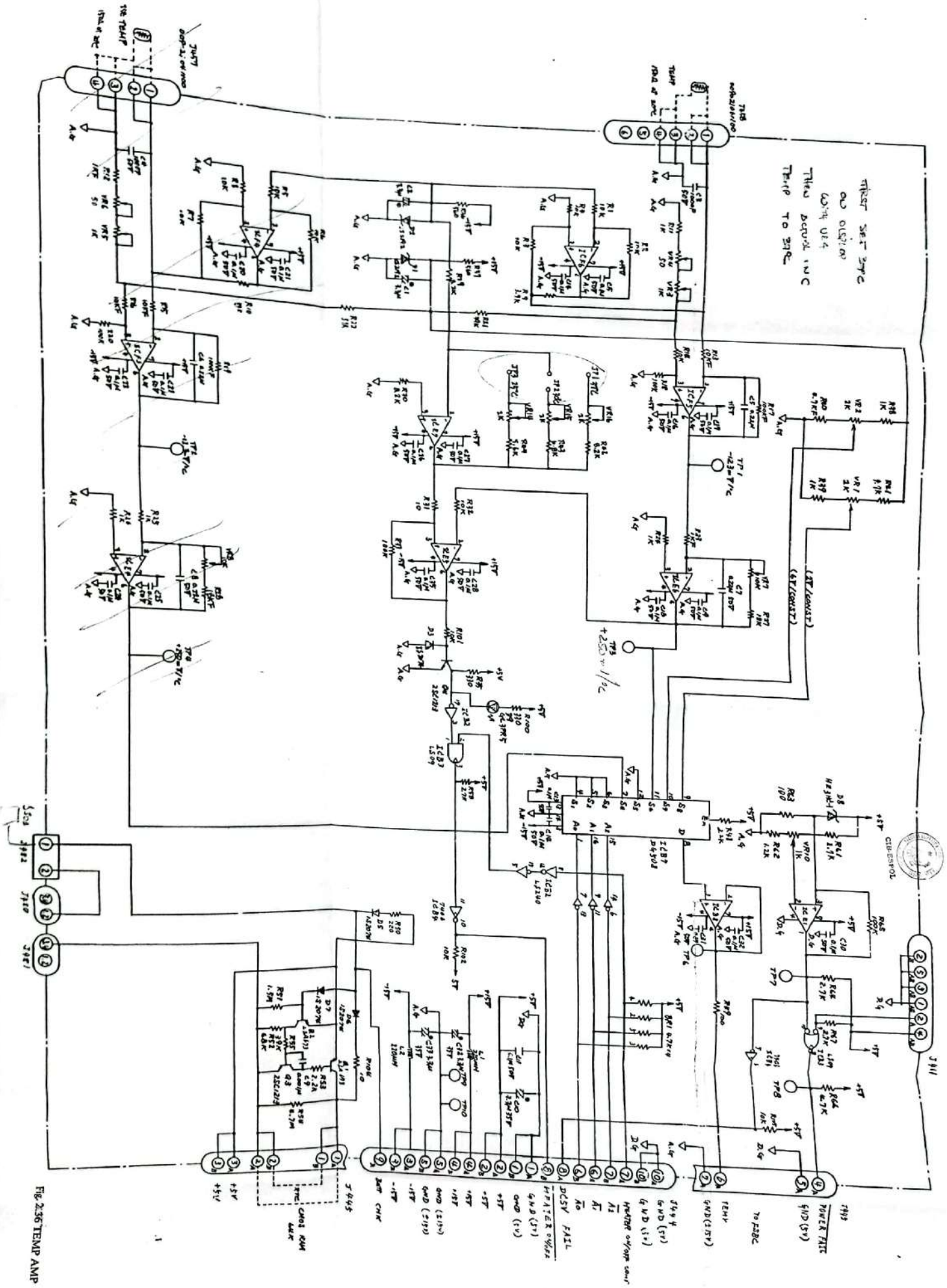


Fig. 2.36 TEMP AMP

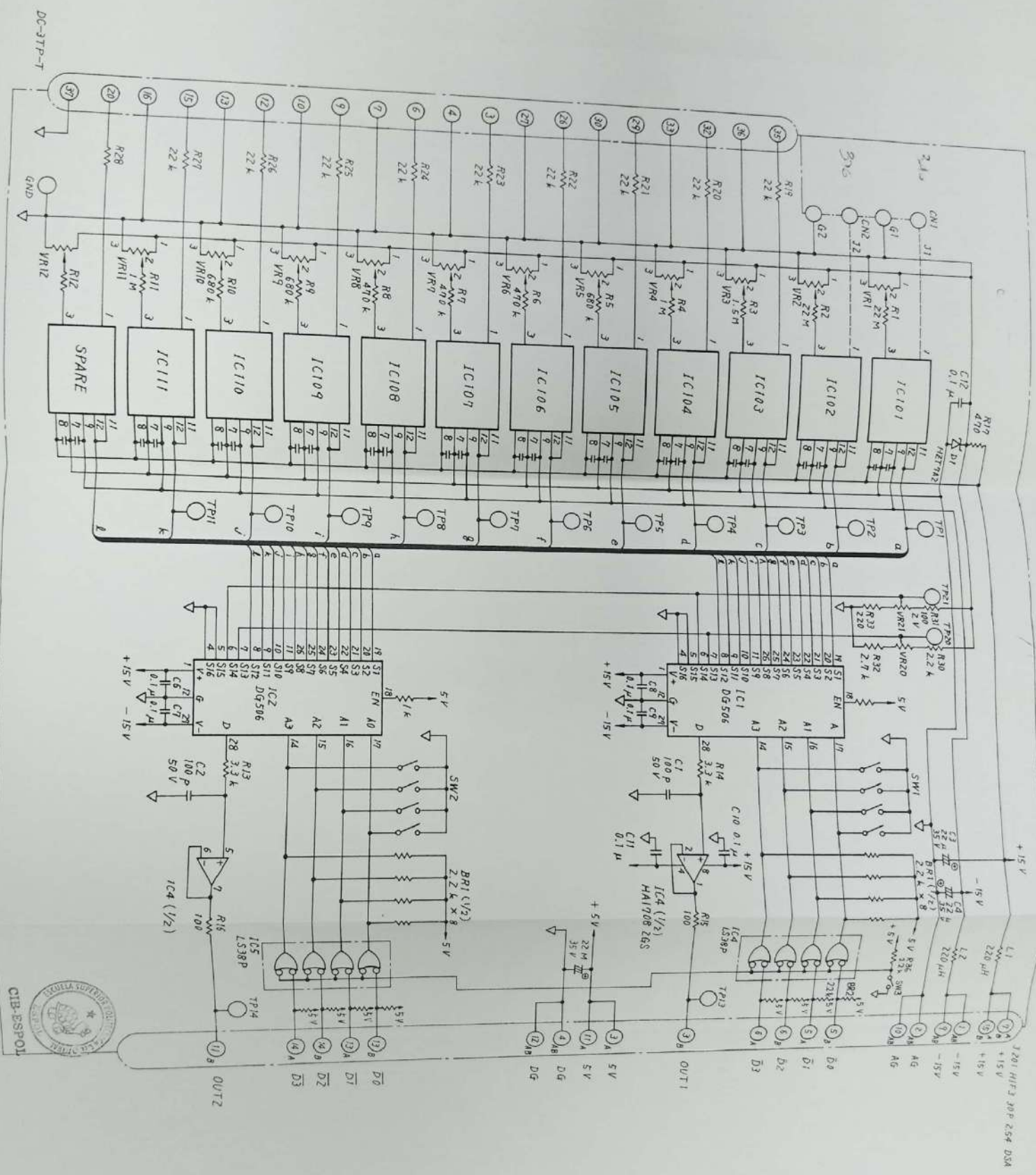


Fig. 2.37 LOG AMP 4



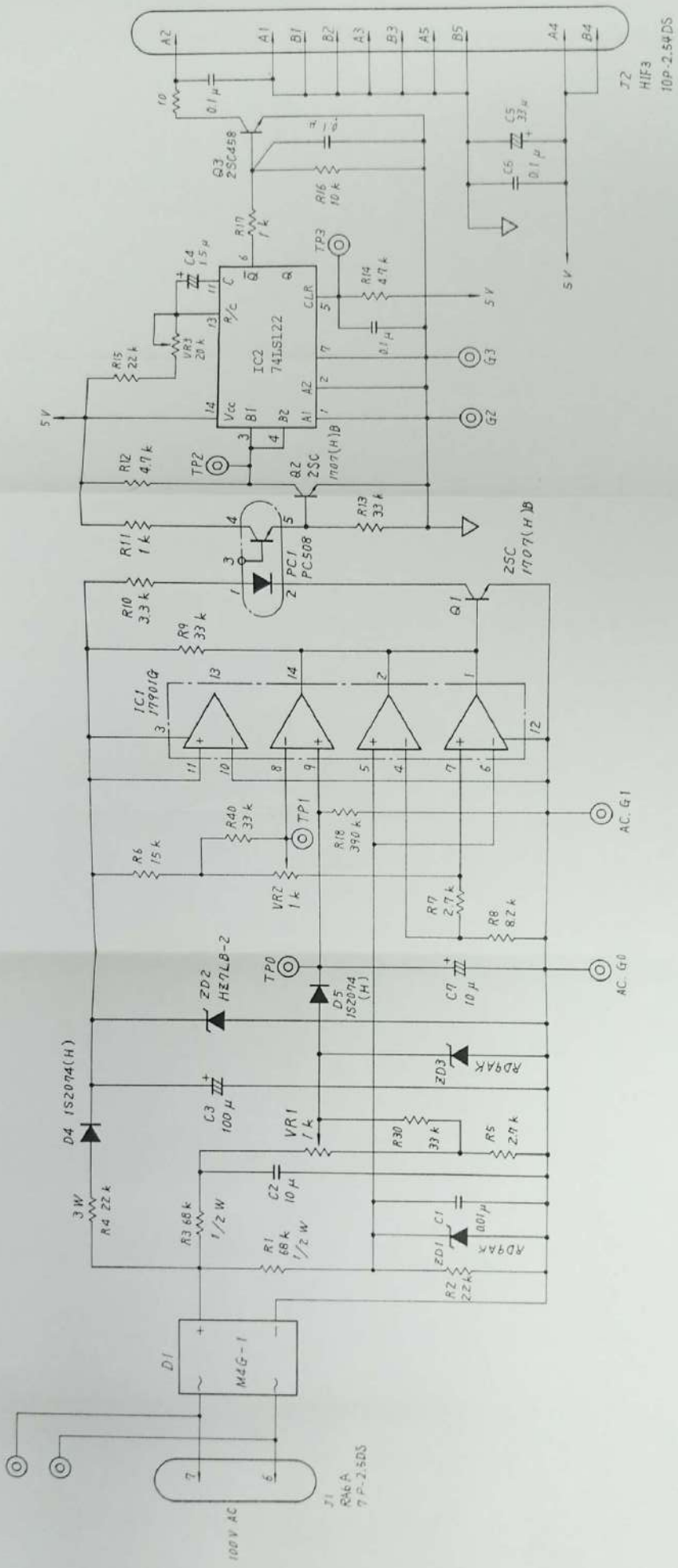


Fig. 2.38 PFD 4



17. WIRINGS

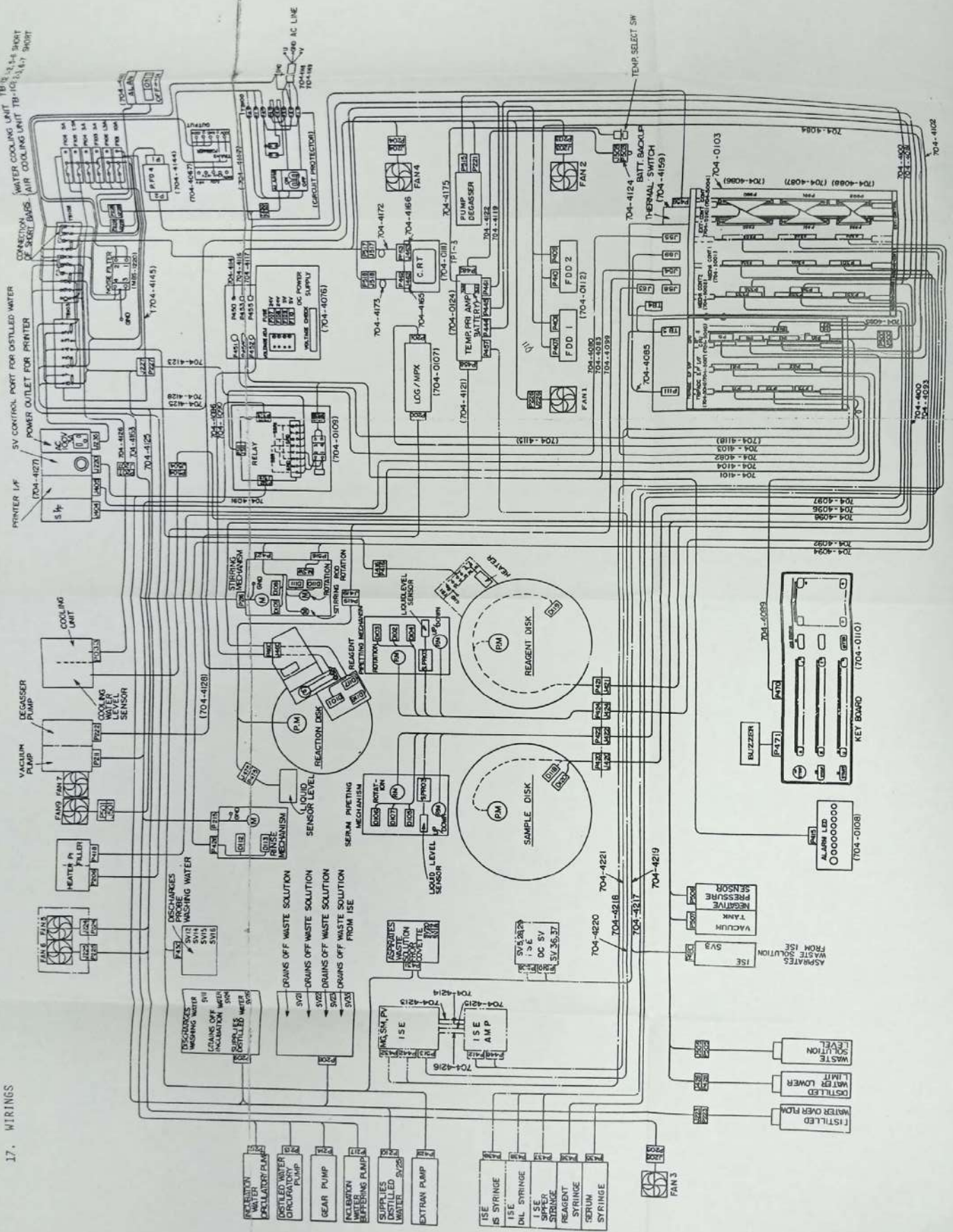


Fig. 2.39 CABLEADO COMPLETO DEL SISTEMA

***MODERNIZACIÓN DEL EQUIPO EN ALMACENAMIENTO Y  
RECUPERACIÓN DE DATOS.***

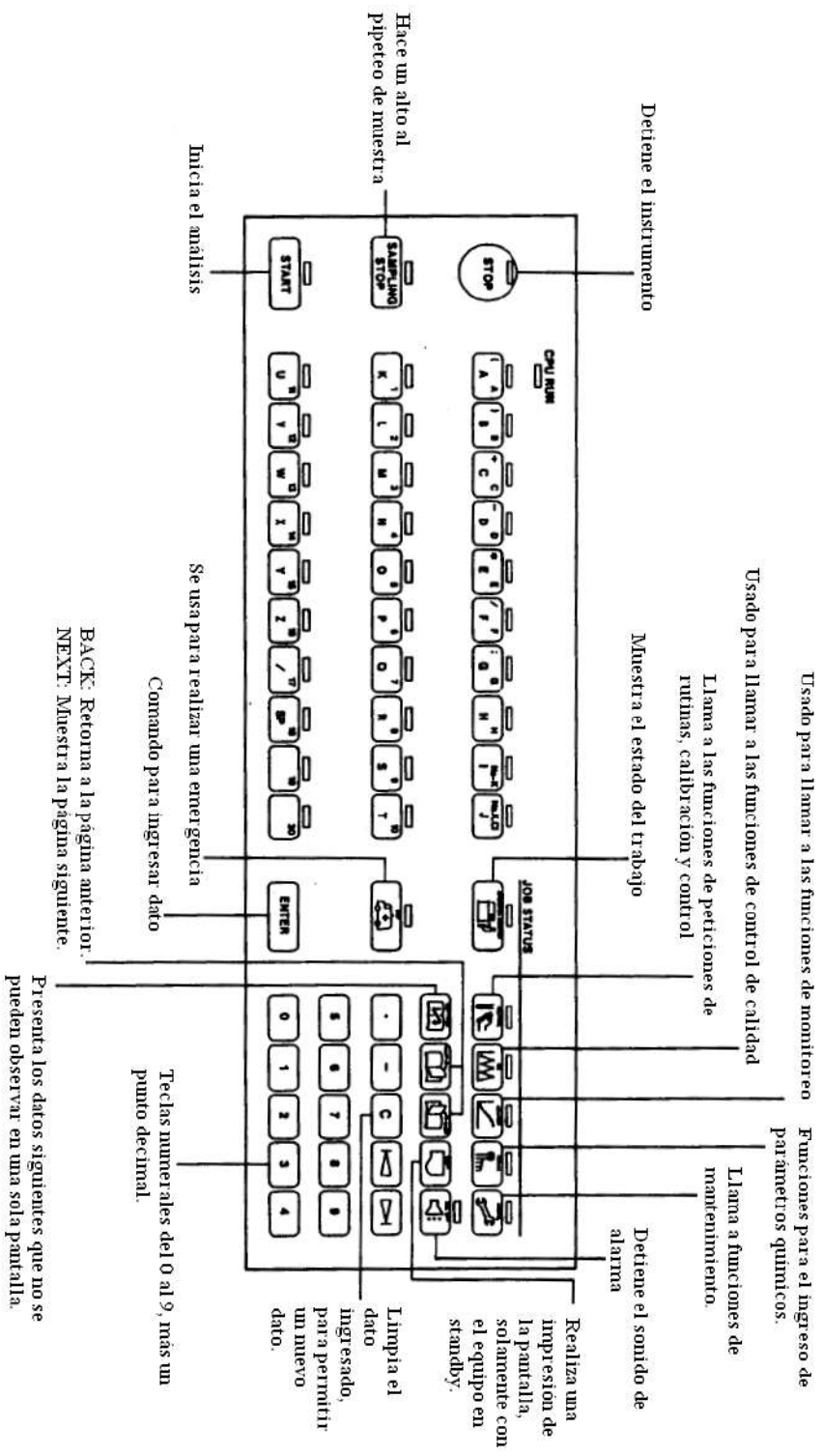
**3.1 Entrada de datos dedicada**

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.), funciones de operación (mantenimiento, control de calidad, parámetros, etc.). Ante este hecho y debido a que éste se encontraba en mal estado, se ha copiado la tarjeta madre del teclado y montado las teclas originales.

La figura 3.1 nos muestra la imagen del teclado deteriorado y la figura 3.2 nos muestra las funciones del teclado.



**FIG. 3.1: Teclado malogrado por el paso del tiempo**



**FIG. 3.2: Funciones del teclado**

## 3.2 Salida de datos convencional

### 3.2.1 Monitor, impresora.

El monitor presentaba fallas en el barrido vertical, se observaba que los textos o palabras se montaban, por lo que se procedió a repararlo. Esta reparación consistió en un resoldado completo de todas sus etapas como fuente, horizontal, vertical, entre otros ya que se encontró soldadura fría y además del reemplazo del circuito integrado responsable del barrido vertical. Ver figura 3.3 y figura 3.4 del monitor y del integrado averiado.



Fig.3.3. Limpieza e inspección de tarjeta electrónica del monitor



Fig.3.4.Circuito integrado responsable del barrido vertical del monitor.

### 3.3 Almacenamiento y recuperación de información

#### 3.3.1 Cambio de la Interfaz de floppy de 5 ¼" a floppy de 3 ½".

Si bien es cierto la idea original era colocar un disco duro en reemplazo del floppy de 5 ¼ que actualmente está discontinuado, la figura 3.5 muestra una imagen de los floppy propios del equipo; en el transcurso de la actualización se encontró que la CPU del equipo es diseñada en forma diferente de una CPU convencional, esto es, no posee interfaces de buses tales como ISA, EISA, PCI, etc. los mismos que sí permiten agregar un hardware adicional.

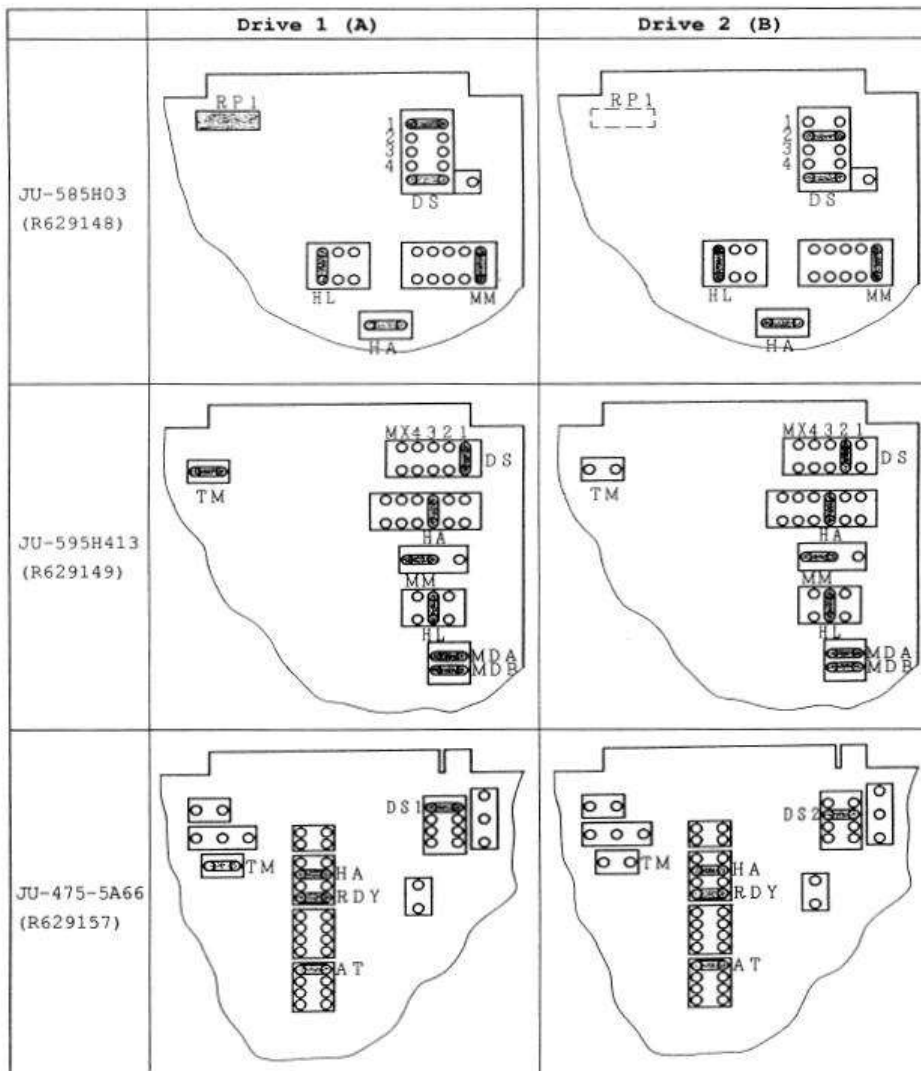


Fig.3.5.Floppy disk de 5 1/4" propios del equipo, actualmente discontinuados.

Por otro lado, la cantidad de información que requiere guardar el equipo, tanto para el arranque como para su operación, no supera los 800 K bytes.

Por las razones antes mencionadas, se decidió construir las respectivas modificaciones para adaptar dos floppy drive de (3 1/2") que es más fácil conseguir y su costo es relativamente bajo.

La figura 3,6 muestra el juego de jumpers, que se debe configurar en el floppy disk de 5 1/4, aquí se puede observar que la configuración requerida indica que la señal MODE SELECT, cambia dependiendo del disquete insertado, así si se trata de un disco de HD 1.2 MB la señal cambia a nivel bajo.



**FIG. 3.6: Juego de jumpers en floppy de 5 1/4 "**

Si el disquete es de HD 700 KB la señal cambia a nivel alto, si el disco es de doble densidad no importa la señal.

La tabla 3.1 nos muestra en detalle las señales que se conectan al floppy drive, por tanto para poder usar una floppy actual se conecta el pin 2 a GND por medio de una resistencia de 150 ohmios, por seguridad, si deseamos ingresar un disco de HD 1.2 MB. Por lo general en el mercado se hallan discos de 2HD 1.2 MB, esto es doble densidad doble cara, en éste caso se desconecta el pin 2 de la floppy para que automáticamente conmute a un valor alto o bajo dependiendo de la señal "side". Para obtener las señales "ready" y "side", lo primero que se debe hacer es desmontar la floppy con mucho cuidado y observar el circuito impreso. Como se puede ver hay unos switches que conmutan cada vez que insertamos el diskette, cada switch tienen una función determinada. Se comprueba la conmutación de éstos switches y usamos aquel que nos de +5 voltios con el disquete ingresado, se desconecta el pin 34 y pin 4 de la floppy y se hace un puente a estos switches, ver figura 3.7, con esto logramos la señal "ready" y la selección de dos caras ya que una cara se la obtiene por el pin 32.

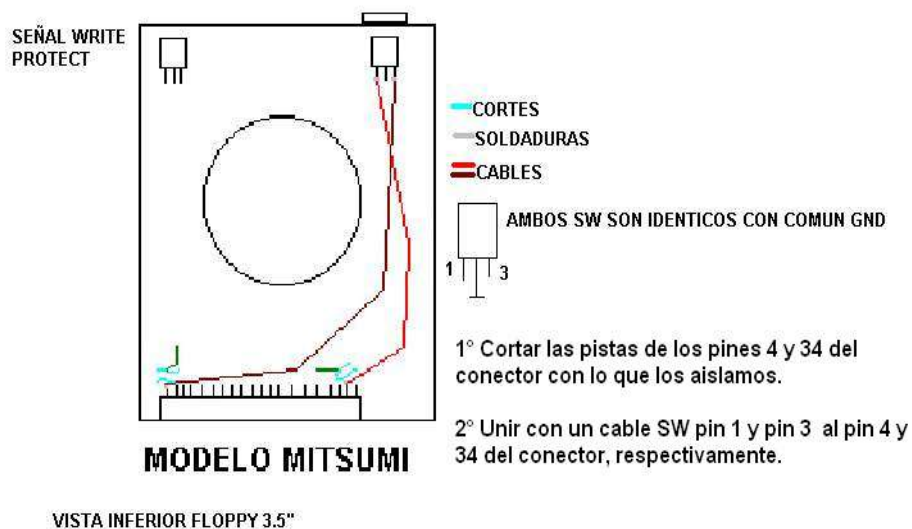


FIG. 3.7: Control de una o dos caras y señal ready



Tabla 3.1: Señales del conector del floppy drive		
N° de Pin de Retorno	N° de Pin de Señal	Nombre de Señal
1	2	MODE SELECT
3	4	NC
5	6	NC
7	8	INDEX
9	10	DRIVE SELECT 0
11	12	DRIVE SELECT 1
13	14	NC
15	16	MOTOR ON
17	18	DIRECTION SELECT
19	20	STEP
21	22	WRITE DATA
23	24	WRITE GATE
25	26	TRACK 00
27	28	WRITE PROTECT
29	30	READ DATA
31	32	SIDE ONE SELECT
33	34	READY

### 3.4 Modernización del cableado del bus de datos

Los cables internos del equipo incluidos los del bus de datos fueron removidos y reemplazados por cables nuevos con sus respectivos terminales ya que los que se encontraban en el equipo presentaban roturas en diferentes lugares. Por el tiempo y por la temperatura interna del equipo los cables tienden a tostarse y quebrarse en los momentos de realizar los mantenimientos, lo que incrementa la incertidumbre al momento de reparar el equipo. Posiblemente ésta fue una de las causas (entre otras) por la cual el equipo dejó de operar. La figura 3.8 nos muestra el cableado nuevo.



**Fig.3.8.Cableado totalmente nuevo y bien estructurado.**

## CAPITULO 4

### ANÁLISIS DEL SOFTWARE Y PRUEBAS

#### 4.1 Software de operación

El software de operación consta de los siguientes archivos:

Archivos de datos:

- DALMDF Guarda información de las alarmas ocurridas durante el día.
- NORMDF Guarda los resultados de las muestras, un total de 46 test por muestra.

Archivos del sistema:

- CALMDF: Guarda un acumulado de alarmas sucedidas por 256 días.
- CUMLDF: Guarda los datos de control de calidad acumulados
- RENWDF: Guarda los valores del control de calidad diarios.
- PDRWDF: Guarda datos de parámetros para cada test.
- TSNORM: Guarda información de los test seleccionados y que se va a trabajar.
- TSCSTD: Guarda información de los test seleccionados para calibración y control.
- PHTDF: Guarda datos del chequeo fotométrico.
- RUNTIME y FOS: Son los archivos del programa y sistema operativo.

El manual de operación detalla de manera muy clara el uso del software con sus respectivas pantallas y qué función realiza cada comando.

## 4.2 Pruebas realizadas

Se realizaron pruebas de glucosa, colesterol, triglicéridos y LDL colesterol (Lipoproteína de baja densidad). Se obtuvieron muestras frescas en el laboratorio clínico Arriaga de la Clínica Kennedy, obteniéndose los siguientes resultados en suero:

La misma muestra se pasó cinco veces con el fin de determinar la precisión en la medición.

	Glucosa	Colesterol	Triglicéridos	LDL Colesterol
Paciente 1	95	182	170	100
	96	183	173	101
	94	181	170	98
	95	182	168	102
	95	183	170	100
Paciente 2	210	255	320	181
	211	254	321	182
	210	256	322	181
	211	255	320	180
	210	255	320	182
Valor esperado	(75 - 115)	<200	<200	<130

Las unidades para todas las pruebas son mg/dL.

Paciente 1: Paciente considerado normal

Paciente 2: Paciente que sufre de Diabetes.

LDL (Lipoproteína de baja densidad)

Se hizo los siguientes cálculos para el paciente 1:

	Glucosa	Colesterol	Triglicéridos	LDL Colesterol
Media	94,99789464	182,198462	170,1925047	100,1911875
Desviación estándar	0,707106781	0,83666003	1,788854382	1,483239697
Desviación/media	0,007443394	0,00459203	0,010510771	0,014804093

La calidad del proceso de medición se mide por el cociente entre la desviación estándar y la media poblacional, mientras menos sea éste valor el proceso de medición es mejor.

Por lo cual podemos decir que el equipo está realizando mediciones precisas.

Refiriéndose al paciente 1 podemos decir que es una persona que se realiza un control de rutina.

Del paciente 2 tenemos como referencia que es un paciente que sufre de diabetes, sin embargo por los resultados arrojados por el equipo y basándonos en las tablas de intervalos de referencia se puede decir que no solamente sufre de diabetes sino que también corre un alto riesgo de una enfermedad cardíaca coronaria. Se puede decir que su mayor problema no es el colesterol elevado sino el LDL Colesterol elevado, que es la lipoproteína que lo transporta.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Después de estudiar el equipo y analizar su comportamiento se observó las siguientes características:

El Hitachi 704 es un analizador que puede ser colocado directamente en el piso y consiste en un carrusel para muestras, un carrusel de reactivos conteniendo 20 recipientes de reactivos y un disco de reacción con 48 cubetas reusables. Las muestras pueden ser pipeteadas cada 10 segundos desde las copas o tubos primarios de colección. Los volúmenes insuficientes de muestras son detectados por un sensor del nivel de líquidos. Los resultados de urgencias para la mayoría de las químicas están disponibles en menos de diez minutos. La característica única del 704 es la habilidad de adicionar múltiples reactivos por método. (Los recipientes vacíos de reactivos pueden ser obtenidos de cualquier casa comercial de bioquímica para aplicaciones definidas del usuario). El equipo tiene capacidad para hacer autodiluciones de muestras de suero y orina así como las características de correr nuevamente una prueba y autocalibrarse en forma automática. Es un equipo selectivo ya que puede realizar pruebas específicas, compartamentaliza cada reacción de la muestra por lo cual se puede decir que un equipo discreto y la estancia de una muestra en el equipo va desde un minuto a quince.

En la parte de actualización se presentó como reto el cambio de los floppy drive, ya que no se podía conseguir floppy de 5 1/4" en el mercado y los floppy de 3 1/2" no funcionaban en su configuración normal, por otra parte, el único programa para que arranque el equipo disponible se encontraba en otra ciudad y en un disco de 5 1/4", esto motiva a dejar como

un reto futuro el cambio del control del equipo por medio de una computadora construyendo un programa diferente, que realice las mismas funciones.

Se concluye que el equipo es muy preciso y confiable, razón por la cual equipos como éstos que dejan de ser útiles para su dueño por discontinuarse debido al cambio de tecnología tanto de hardware y software computacional, debe crearse o desarrollarse, una empresa que se dedique a reciclarlos y reconstruirlos, permitiendo que éstos equipos sigan aportando a la comunidad tanto de laboratorio como investigación a precios muy cómodos.

Es de suma importancia la aplicación de la electrónica a las aplicaciones médicas y en el caso de las aplicaciones a la bioquímica clínica se puede decir que la electrónica se ha desarrollado a pasos gigantescos, no sucediendo lo mismo con la química de reactiva, la cual permanece igual desde hace algunas décadas (Esto es debido a que los procesos químicos en el cuerpo humano siguen invariables). Por lo cual equipos desarrollados hace veinte años para el análisis bioquímico pueden seguir funcionando en la actualidad entregando resultados muy confiables.

En nuestro medio, América latina, y hablando de Ecuador y especialmente Guayaquil, las grandes empresas multinacionales han acaparado la venta de equipos y reactivos químicos para laboratorio, sin embargo el conocimiento entregado a la comunidad científica y tecnológica local es muy escaso, razón suficiente para pedir a los directivos de la universidad que le dediquen un especial interés a la investigación electrónica en el área médica, la cual se convertirá en un futuro próximo en una fuente de trabajo para muchos.

## BIBLIOGRAFÍA

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.

National Committee for Clinical Laboratory Standards: Approved standard procedures for the collection of diagnostic blood specimens by skin puncture. Villanova, Pa, 1982.

Pendergraph, GA: Handbook of phlebotomy, segunda edición. Philadelphia, Lea and Febiger, 1988.

College of American Pathologists: So you're going to collect a blood specimen, quinta edición.. Danville, IL, Interstate Printers, 1992.

F. Hoffmann – La Roche S.A.: LaRoche ilustrado, quinta edición. Basilea, Suiza, 1998.