

**MEDIDA DE TIEMPOS DE COAGULACIÓN DE PLASMA HUMANO
MEDIANTE UN SISTEMA ÓPTICO AUTOMATIZADO**

**MALLY ALEJANDRA PAZ GÓMEZ
SANDRA LILIANA MOLANO HURTADO**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar el título de
Ingeniera Física**

**Director:
ING. MARIO MILVER PATIÑO VELASCO**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
POPAYÁN
2007**

INTRODUCCIÓN

El avance de la tecnología permite el descubrimiento de nuevos métodos de medición, compitiendo ventajosamente con las técnicas tradicionales. Una consecuencia de la evolución tecnológica es la automatización de los instrumentos de laboratorios clínicos, que ha permitido la optimización cualitativa y cuantitativa de los exámenes de laboratorio. Sin embargo, el control de costos en los recursos tecnológicos para diagnósticos y tratamientos médicos en los últimos años es significativamente alto, de manera que se ha hecho difícil para algunos hospitales y laboratorios la adquisición de equipos sofisticados. Es por eso que los métodos manuales siguen siendo utilizados por algunos laboratorios durante el desarrollo de muchas de las pruebas que realizan, aunque, estas metodologías tengan un bajo rendimiento con respecto a los equipos automatizados, lo que en cierta manera propicia que el volumen de trabajo sea siempre creciente, trayendo consecuencias como lesiones y agotamiento a las personas encargadas.

En el desarrollo de este proyecto se implementó un primer prototipo de un instrumento de medida de tiempos de coagulación, el coagulómetro SM47, con que busca suplir la necesidad de tecnología actualizada a bajo costo, como una primera aproximación a la propuesta de soluciones a las necesidades actuales del país en el área de salud para diagnóstico y toma de decisiones.

El coagulómetro SM47, se enmarca dentro de los sistemas no destructivos de análisis, pues éste emplea una fuente láser de baja intensidad para irradiar la muestra, sin hacer contacto físico con ésta, garantizando así la no alteración de sus propiedades físicas y químicas.

El equipo implementado es tecnológicamente flexible gracias a que los sensores y otros dispositivos electrónicos son fácilmente reemplazables y el software utilizado puede ser modificado en cualquier momento, simplificando las rutinas de mantenimiento, reparación y actualización.

El documento se presenta de la siguiente manera: en el primer capítulo se hace una breve descripción del proceso de coagulación. En el segundo capítulo, se hace una introducción a los conceptos básicos de óptica y los efectos térmicos necesarios en el desarrollo del equipo; el tercer capítulo describe el diseño, caracterización, implementación y control del sensor de temperatura, el sistema rotatorio, el sistema de radiación y fotodetección, la descripción del software y la base de datos implementados. El cuarto capítulo muestra los resultados de las pruebas realizadas, el análisis de las pruebas y en el quinto capítulo se describen las limitaciones y sugerencias del coagulómetro SM47 y las conclusiones obtenidas al utilizar el coagulómetro SM47 para la realización de las medidas de los tiempos de coagulación de plasma humano, a partir de las pruebas de tiempo de protrombina (TP), tiempo parcial de tromboplastina (TPT) y tiempo de trombina (TT).

CAPITULO UNO

1. LA HEMOSTASIA Y EL PROCESO DE LA COAGULACIÓN

1.1 HEMOSTASIA: UN MECANISMO NATURAL DE DEFENSA

La hemostasia se define como el mecanismo encargado de mantener la fluidez de la sangre dentro del organismo y detener de manera espontánea o inducida, el flujo de sangre por rupturas en la integridad del sistema vascular [1]. La hemostasia depende del correcto funcionamiento de cuatro sistemas biológicos: vasos sanguíneos, plaquetas, factores plasmáticos de la coagulación y fibrinólisis; y puede verse alterada por trastornos congénitos y/o adquiridos de cada uno de éstos, predisponiendo al sangrado espontáneo o a la hemorragia excesiva después de traumatismos o intervenciones quirúrgicas, como también a la formación de trombos, es decir coágulos circulando dentro del organismo.

La hemostasia se lleva a cabo en dos fases. En la **hemostasia primaria** tienen lugar dos procesos, el primero es una vasoconstricción o espasmo vascular local y el segundo consiste en la aglutinación de las plaquetas y la formación de un agregado plaquetario que tapona rápidamente la zona lesionada. Este tapón es temporal y se transforma en un coágulo gracias a la transformación del fibrinógeno en fibrina. Este proceso, conocido como coagulación junto con la fibrinólisis, constituyen la segunda fase de la hemostasia, denominada **hemostasia secundaria**. En la figura 1.1 se pueden observar los pasos que constituyen el mecanismo de la hemostasia.

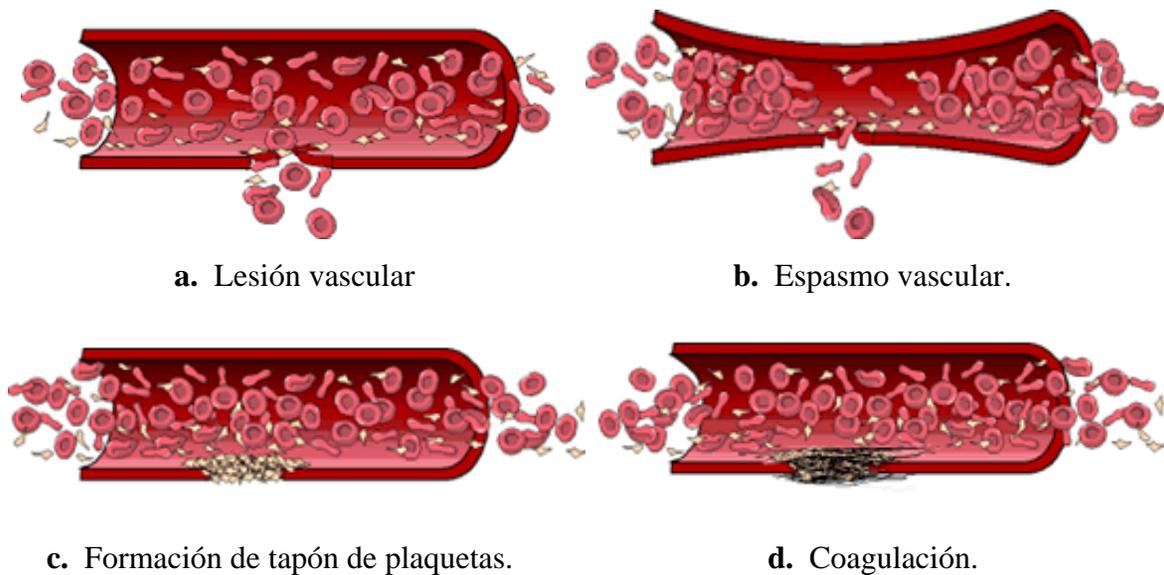


Figura 1.1 Mecanismo de la hemostasia.

A continuación se describe brevemente el mecanismo fisiológico de la coagulación.

1.1.1 Coagulación sanguínea. En la coagulación, que es la modificación del estado físico de la sangre, pasando de líquido a gel, se producen una serie de reacciones en cadena que, gracias a la liberación de diversos factores presentes en la sangre y liberados por el tejido lesionado, y a las plaquetas, determinan la síntesis de fibrina. Las moléculas de fibrina constituyen una red tridimensional en la que quedan atrapados los elementos que componen la sangre (plaquetas, glóbulos blancos y glóbulos rojos). Es decir este proceso necesita una serie de reacciones en varias proteínas plasmáticas, para transformarlas de un estado inactivo a otro activo, que a su vez, ayudará a que otra reacción del mismo tipo se dé con otra proteína, estas proteínas son conocidas como "factores de coagulación", de los cuales hay 12 que se denominan con números romanos, más otros factores que no tienen asignado numeral y que son los factores de contacto [2].

En la tabla 1.1 se enumeran los factores de coagulación acompañados del número romano con el cual se conocen convencionalmente:

Tabla 1.1 Factores de coagulación

Factor	Nombre
I	Fibrinógeno
II	Protrombina
III	Tromboplastina tisular o factor tisular
IV	Calcio
V	Proacelerina
VII	Proconvertina
VIII:C	Factor VIII procoagulante, factor antihemofílico A (AHF)
IX	Componente plasmático de tromboplastina, factor antihemofílico B (BHF)
X	Factor de Stuart-Prower
XI	Antecedente plasmático de tromboplastina (PTA)
XII	Factor de Hageman o factor de contacto
XIII	Factor de estabilización de fibrina
---	Factor de Fletcher (precalicreina)
---	Kininógeno de alto peso molecular

El proceso de coagulación se divide en dos sistemas: intrínseco y extrínseco.

1.1.1.1 Vía intrínseca. Esta etapa comienza en el espacio intravascular, donde el factor XII es activado en el momento en que el vaso sanguíneo pierde una porción de su endotelio. Cuando el factor XII es activado se convierte en XIIa y éste es el encargado de activar el factor XI a XIa. En este último estado el factor XIa activa a los factores VIII y IX que se encuentran unidos a la membrana plaquetaria. Luego comienza la activación de un segundo grupo de factores a nivel plaquetario, que corresponden a los factores X y V, que

en su forma activa logran la conversión de los últimos factores de la vía intrínseca: los factores II y I. El factor II al activarse pasa a formar trombina, la que logra la conversión del factor I en enlaces de fibrina necesarios para la formación del coágulo. Para que el coágulo se establezca de manera óptima, finalmente actúa el factor XIII mediante la agregación de enlaces cruzados en sitios adicionales. La interacción de los factores de coagulación en la vía intrínseca se muestra en la figura 1.2.

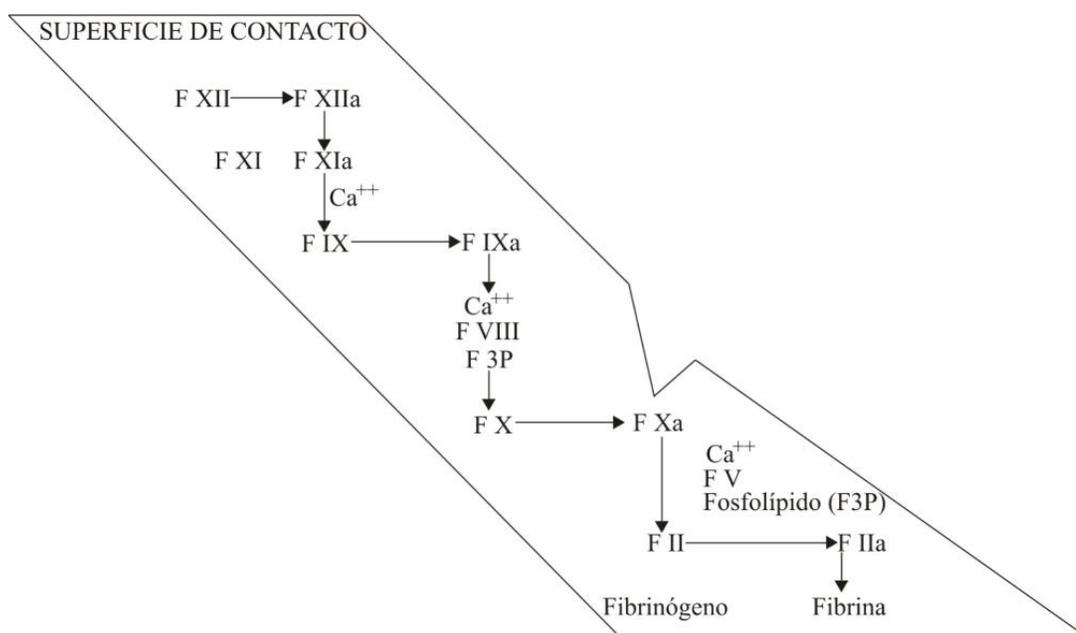


Figura 1.2 Interacción de los factores del sistema intrínseco de la coagulación.

1.1.1.2 Vía extrínseca. Esta vía consiste en una activación tisular, la cual actúa como método más corto y alternativo en la formación de fibrina sólo en presencia de daño vascular. En primer lugar se da la unión del factor VII a un fosfolípido tisular por medio de un puente de calcio, lo cual se desarrolla tanto en las células endoteliales como extravascularmente. Al activarse el factor VII, éste actúa directamente sobre el factor X

en polímero de fibrina que es un poco más estable. Finalmente el polímero de fibrina en presencia del ion calcio y el factor XIII activado también por la trombina producen fibrina estable.

La evaluación de los periodos de tiempo que toma la actuación de las tres vías de la coagulación sirve para varios tipos de análisis que contribuyen a diagnósticos médicos como se verá a continuación.

1.1.2 Tiempos de coagulación. Para la prevención y tratamiento de anomalías debidas a insuficiencias o exceso de los factores de coagulación se han implementado pruebas clínicas que, basándose en tiempos estandarizados de formación del coágulo de fibrina, indican al médico cómo debe actuar. Entre estos procedimientos se encuentran: el tiempo de protrombina, el tiempo parcial de tromboplastina y el tiempo de trombina.

1.1.2.1 Tiempo de protrombina (TP). Evalúa el mecanismo extrínseco y la vía común de la coagulación (factores I, II, V, VII, X). Consiste en apreciar cuánto tarda en coagular una mezcla de plasma como consecuencia de una concentración elevada de factor tisular. Dicha mezcla contiene tromboplastina tisular y calcio. Este tiempo varía según el origen de la tromboplastina utilizada. El TP normal puede expresarse de varias maneras:

- Una manera de expresar el TP es en segundos, el valor normal está entre 10 y 14 segundos.
- Otra manera de expresar el TP es como la razón entre el tiempo del paciente y el tiempo de control, siendo lo normal $1 \pm 0,2$.

$$TP = \frac{\textit{segundos}_{\textit{paciente}}}{\textit{segundos}_{\textit{control}}} \quad (1)$$

- Y además existe otra manera de expresar el TP que se denomina INR (Tasa Internacional Normalizada) y que permite obtener el resultado como si todo el mundo utilizase la misma tromboplastina.

$$INR = \left(\frac{TP_{paciente}}{TP_{control}} \right)^{ISI} \quad (2)$$

Donde el ISI es el índice de sensibilidad internacional, producto de un cálculo que realiza el fabricante y que debe aparecer registrado en el envase de transporte del reactivo (tromboplastina). El INR normal es de hasta 1.5.

Cuando hay alteración de alguno de los factores el TP se prolonga, lo cual ocurre en pacientes con enfermedades hepáticas, deficiencias de vitamina K o en terapia con anticoagulantes orales.

1.1.2.2 Tiempo parcial de tromboplastina (TPT). Evalúa el mecanismo intrínseco y la vía común de la coagulación (factores I, II, V, VIII, IX, X, XI y XII). Detecta anomalías en las reacciones de coagulación sanguínea activadas por la exposición del plasma a una superficie de carga negativa, siendo ésta una activación por contacto.

El plasma se incuba durante 3 minutos, y luego se le agrega una mezcla de fosfolípidos y un activador de contacto para mimetizar el rol de las plaquetas en el proceso de la coagulación y, posteriormente calcio, y se mide el tiempo de coagulación.

El tiempo se mide en segundos y se expresa como una razón:

$$TPT = \frac{\text{segundos}_{paciente}}{\text{segundos}_{control}} \quad (3)$$

El TPT normal es 1, y corresponde a un tiempo de 25 a 35 segundos. No es posible obtener un tiempo menor al límite inferior del rango de TPT normal establecido por el laboratorio que realice la prueba. Los tiempos prolongados o superiores al rango de normalidad son indicio de enfermedades del mecanismo de coagulación como cirrosis, coagulación intravascular diseminada, hemofilias, lupus, entre otras. Además el TPT es ampliamente usado para supervisar terapias con heparina.

1.1.2.3 Tiempo de trombina (TT). Evalúa la vía común de la coagulación. Estudia la última etapa de la coagulación, es decir la reacción trombina-fibrinógeno, siendo el método más simple para detectar trastornos de la formación de la fibrina.

Mide el tiempo necesario para que una solución estandarizada de trombina coagule el plasma problema. El tiempo de trombina normal varía entre 11 y 14 segundos. No es posible obtener un TT menor al límite inferior del rango de normalidad y un tiempo superior a este indica la presencia de enfermedades de la coagulación.

Éste se ve alterado frente a disfibrinogenemias, coagulación intravascular diseminada, antifibrinogenemia y frente a tratamiento con heparina, principalmente cuando la actividad antitrombínica del plasma está aumentada. [3]

En la tabla 1.2 aparecen los tiempos normales de coagulación establecidos por el laboratorio de Hematología de la Facultad de Ciencias de la Salud

Tabla 1.2. Rangos de tiempo normales para las pruebas de TP, TPT y TT establecidos por el Laboratorio de Hematología.

Tipo de prueba	Rango de tiempo (s)
TP	10-14
TPT	25-35
TT	11-14

CAPITULO DOS

2 CONCEPTOS FUNDAMENTALES DE ÓPTICA Y TRANSFERENCIA DE CALOR

2.1 PRINCIPIOS ÓPTICOS

2.1.1 Introducción. Cuando la radiación electromagnética actúa sobre un sistema de cargas eléctricas, como átomos, moléculas y núcleos, el sistema absorbe y reemite energía de la onda. Para entender las ideas fundamentales de este proceso considere un haz de luz que incide sobre una muestra, por ejemplo de plasma humano como se observa en la figura 2.1, la muestra absorbe algo de la luz que incide sobre ella. Donde I_0 es la intensidad de la luz incidente sobre la primera cara de la muestra. En esta primera cara, algo de la intensidad se refleja R_1 y parte I_1 penetra en la muestra. Cuando la luz atraviesa la muestra, parte de la energía se absorbe, por lo que en la segunda cara sólo incide la intensidad radiante $I_2 (< I_1)$. A partir de este punto, parte de la intensidad se refleja R_2 , y parte se transmite I_t saliendo al exterior. Una parte del rayo R_2 se absorbe cuando se propaga hacia la primera cara, otra parte se transmite saliendo fuera de la muestra, y una tercera parte se refleja de nuevo dentro de la muestra.

Las reflexiones internas continúan indefinidamente, pero la potencia va disminuyendo cada vez más, hasta prácticamente anularse después de varios ciclos.

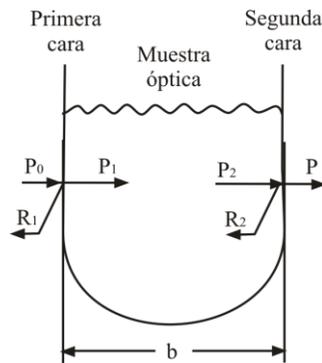


Figura 2.1. Trayectoria del haz atravesando la muestra de plasma sanguíneo.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente y de forma general, cuando un haz de luz incide sobre una muestra la intensidad de dicho haz es modificada, generalmente debido a los fenómenos de esparcimiento, transmisión, reflexión y absorción, que se describen brevemente a continuación

2.1.1.1 Esparcimiento. Este fenómeno ocurre cuando se tiene un haz de luz incidiendo sobre un material cuya frecuencia de resonancia es mucho mayor que la frecuencia de la luz incidente. Así, la energía incidente no es capaz de excitar los átomos del material; sino que hace que los electrones de esos átomos empiecen a oscilar en torno a los núcleos positivos, constituyendo lo que se conoce como dipolo oscilante y haciendo que el átomo empiece a radiar a la misma frecuencia. Se habla de esparcimiento elástico cuando los fotones esparcidos tienen la misma energía del fotón incidente.

El esparcimiento se puede analizar para medios poco densos, como los gases a baja presión y para medios más densos como gases a alta presión, líquidos y sólidos. En los medios poco densos predomina el esparcimiento hacia los lados, debido a que los átomos están bien separados y se pueden considerar independientes, lo que conlleva a que no se presente interferencia entre las ondas reemitidas lateralmente por cada átomo.

En los medios densos, un gran número de átomos o moléculas aglutinados dan lugar a un igualmente gran número de trenes de ondas electromagnéticas esparcidas. Estos trenes de ondas se solapan e interfieren de un modo que no se da en un medio menos denso; es decir, el tren de ondas esparcido interfiere constructivamente en la dirección frontal, pero ahora predomina la interferencia destructiva en todas las demás direcciones. En un medio denso homogéneo, muy poca luz o nada acaba esparcida hacia los laterales o hacia atrás. La interferencia provoca una redistribución de la energía: la quita de las zonas donde la interferencia es destructiva y la pone en aquellas donde es constructiva.

Como regla general, cuanto más densa es la sustancia por la que la luz avanza, menor es el esparcimiento lateral; esto es, cuanto más denso, uniforme y ordenado es el medio, más completa será la interferencia destructiva lateral y menor será la dispersión no frontal y el haz de luz avanzará prácticamente intacto.

Sin embargo, el líquido es un estado mucho más ordenado con fluctuaciones de densidad menos pronunciadas, lo cual debería suprimir el esparcimiento no frontal apreciablemente. Así pues, en los líquidos se observa un aumento del esparcimiento frontal por unidad de volumen; las moléculas de los líquidos esparcen lateralmente menos que las moléculas de los gases.

Los sólidos transparentes amorfos, como el vidrio o el plástico, también difundirán la luz lateralmente, si bien de manera muy débil. Los cristales buenos, tales como el cuarzo o la mica, poseen una ordenación molecular casi perfecta y por lo tanto la luz se esparce aún más débilmente.

Cuando el número de moléculas que hay en una partícula es pequeño y estas se encuentran muy juntas entre sí, sus trenes de ondas interfieren constructivamente, por lo que el esparcimiento que se produce es mayor. A medida que el tamaño de la partícula se

aproxima a la longitud de onda, los átomos situados en los extremos dejan de radiar trenes de onda y el esparcimiento empieza a decrecer.

2.1.1.1.1 Esparcimiento Rayleigh. En la teoría del esparcimiento Rayleigh se considera una serie de moléculas independientes distribuidas aleatoriamente en el espacio, de tal modo que las fases de los trenes de ondas secundarios que se esparcen hacia los lados no tienen relación alguna entre ellos y no se mantiene ninguna distribución de interferencia; es decir, los dispersores muy espaciados y al azar, activados por una onda primaria incidente emiten trenes de ondas, básicamente independientes unos de otros, en todas las direcciones excepto hacia delante. La luz esparcida lateralmente, no impedida por la interferencia, se desvía del haz principal. Esta situación se produce cuando la separación entre los dispersores moleculares es de una longitud de onda o más, como sucede con un gas de poca densidad. Además, el esparcimiento Rayleigh implica partículas más pequeñas que una longitud de onda.

2.1.1.1.2 Esparcimiento Mie. En 1908, Gustav Mie publicó una solución rigurosa del problema de dispersión de luz por partículas esféricas homogéneas de tamaño comparable ó más grande que la longitud de onda. La teoría de esparcimiento de Mie presenta una solución en la cual se tiene en cuenta el tamaño de las partículas, pero también su índice de refracción y el del medio que las rodea, y asimismo, su forma, constante dieléctrica, y absorptividad. El esparcimiento Mie depende solo mínimamente de la longitud de onda, y es totalmente independiente de ésta cuando el tamaño de la partícula es superior a la longitud de onda. Resulta razonable afirmar que, con respecto al esparcimiento Mie, el esparcimiento Rayleigh es el caso límite a tamaño pequeño.

2.1.1.2 Transmisión. Transmisión es el término usado para describir el proceso por el cual una fracción de la luz incidente sobre una superficie o medio logra emerger de él, usualmente el lado opuesto al lado incidente.

La transmitancia τ es la razón entre el flujo transmitido Φ_t al flujo incidente Φ_i ,

$$\tau = \frac{\Phi_t}{\Phi_i} \quad (4)$$

La transmitancia espectral $\tau(\lambda)$ de un medio es la razón entre el flujo espectral transmitido $\Phi_{\lambda t}$ al flujo espectral incidente $\Phi_{\lambda i}$, es decir

$$\tau(\lambda) = \frac{\Phi_{\lambda t}}{\Phi_{\lambda i}} \quad (5)$$

de tal modo que

$$\tau = \frac{\int_0^{\infty} \tau(\lambda) \Phi_{\lambda i} d\lambda}{\int_0^{\infty} \Phi_{\lambda i} d\lambda} \neq \int_{\lambda} \tau(\lambda) d\lambda \quad (6)$$

2.1.1.3 Reflexión. Reflexión es el proceso dónde una parte de la fracción de luz incidente sobre una superficie o medio se regresa de nuevo hacia la fuente. La reflexión puede ser especular, difusa o una combinación de ambas.

La reflectancia ρ es la razón entre el flujo radiante reflejado Φ_r , y el flujo radiante incidente Φ_i ,

$$\rho = \frac{\Phi_r}{\Phi_i} \quad (7)$$

La reflectancia espectral se define para una longitud de onda específica λ como,

$$\rho(\lambda) = \frac{\Phi_{\lambda r}}{\Phi_{\lambda i}} \quad (8)$$

de tal modo que

$$\rho = \frac{\int_0^{\infty} \rho(\lambda) \Phi_{\lambda i} d\lambda}{\int_0^{\infty} \Phi_{\lambda i} d\lambda} \neq \int_{\lambda} \rho(\lambda) d\lambda \quad (9)$$

2.1.1.4 Absorción. Absorción es el proceso por el cual una fracción de luz incidente es convertida a otra forma de energía, usualmente calor. Absorbancia es la fracción de luz incidente que es absorbida. La absorbancia α es la razón entre el flujo radiante absorbido Φ_a , y el flujo radiante incidente Φ_i ,

$$\alpha = \frac{\Phi_a}{\Phi_i}. \quad (10)$$

Similarmente, la absorbancia espectral $\alpha(\lambda)$ es la razón entre la fuente absorbida espectral $\Phi_{\lambda a}$ y el poder espectral incidente $\Phi_{\lambda i}$, es decir

$$\alpha(\lambda) = \frac{\Phi_{\lambda a}}{\Phi_{\lambda i}} \quad (11)$$

de tal modo que

$$\alpha = \frac{\int_0^\infty \alpha(\lambda) \Phi_{\lambda i} d\lambda}{\int_0^\infty \Phi_{\lambda i} d\lambda} \neq \int_\lambda \alpha(\lambda) d\lambda \quad (12)$$

El coeficiente de absorción α' (m^{-1}) es usado con frecuencia en la expresión

$$\tau_i = e^{-\alpha' x} \quad (13)$$

donde τ_i es la transmitancia interna y x es la coordenada..

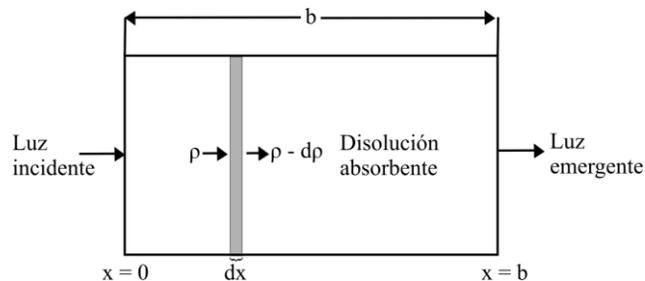


Figura 2.2 Relación entre transmitancia y concentración de una muestra.

Si una onda de potencia radiante P (figura 2.2) pasa a través de una capa infinitamente fina de una disolución de espesor dx , la disminución de potencia dP es proporcional a la potencia incidente P , a la concentración de la especie absorbente c , y al espesor de la sección dx :

$$dP = -\beta P c dx \quad (14)$$

donde β es una constante de proporcionalidad definida como el producto de ε por $\text{Ln}(10)$, y el signo menos significa que P disminuye al aumentar x . La ecuación (11) se puede reordenar e integrar para hallar una expresión de P .

$$\text{Log}\left(\frac{P_0}{P}\right) = \left(\frac{\beta}{\text{Ln}10}\right)cb \Rightarrow A = \varepsilon cb \quad (15)$$

La relación logarítmica de $\frac{P_0}{P}$ aumenta con la concentración, porque para cada porción infinitesimal del volumen total, la disminución de potencia es proporcional a la potencia que incide sobre esa sección. Cuando la luz atraviesa la muestra, la pérdida de potencia disminuye en cada nueva capa, porque también disminuye la magnitud de la potencia incidente que llega a esa capa. Esta expresión se conoce como ley de Beer y afirma que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente. La fracción de luz que pasa a través de una muestra se relaciona logarítmicamente con la concentración de la muestra como se observa en la figura.2.2.

2.1.1.5 Relación entre transmitancia, reflectancia, y absorbancia. El flujo radiante incidente sobre una superficie o medio experimenta transmisión, reflexión, y absorción. La aplicación de la ley de conservación de energía lleva a que la suma de la energía transmitida, la reflejada y la absorbida debe ser igual a la energía incidente. La normalización de estas cantidades conduce a que

$$\alpha + \tau + \rho = 1 \quad (16)$$

En ausencia de efectos no lineales (por ejemplo efecto Ramman, etc.)

$$\alpha(\lambda) + \tau(\lambda) + \rho(\lambda) = 1 \quad (17)$$

2.2 EFECTOS TÉRMICOS

2.2.1 Introducción. El proceso de la coagulación ocurre solo bajo las condiciones de temperatura que se presentan en el cuerpo, es decir en un rango muy estrecho alrededor de los 37,0°C, de no ser así las sustancias que intervienen sufren una desnaturalización alterando los patrones de comportamiento y proporcionando resultados fallidos, es por eso que el coagulómetro SM47 incluye un sistema de control de temperatura que garantiza la manutención de las muestras a la temperatura adecuada. En la implementación del control de temperatura se tuvo en cuenta que dentro de los sistemas térmicos existen factores tales como temperatura y calor y resulta conveniente evocar estos conceptos, la temperatura es una magnitud física descriptiva de un sistema que caracteriza la transferencia de energía térmica o calor, entre ese sistema y otros. El calor representa la cantidad de energía que un cuerpo transfiere a otro como consecuencia de una diferencia de temperatura entre ambos.

A continuación se hace una breve introducción a los principales fenómenos térmicos.

2.2.2 Efecto Joule. El modelo más elemental de lo que sucede en un conductor real supone que las cargas móviles del conductor responden a la aplicación de un campo eléctrico externo \vec{E} , acelerándose. Esta situación involucra una continua ganancia de energía cinética que es compensada por una pérdida equivalente de energía debido a las continuas interacciones que sufren las cargas móviles en el interior del material conductor.

Este continuo disipe de energía se hace en forma de calor, proceso al que se le denomina efecto joule [4].

La producción de calor por efecto Joule se puede describir a partir del modelo siguiente: se supone que un elemento de carga dq es parte de una corriente i que circula por un conductor en un instante de tiempo dt , por lo tanto

$$dq = idt \quad (18)$$

El trabajo dw realizado por el campo sobre la carga se puede expresar mediante

$$dw = ivdt \quad (19)$$

donde v representa la diferencia de potencial a la que está sometido el conductor. En consecuencia, el ritmo temporal con el que se realiza este trabajo, es la potencia P disipada en forma de calor en la resistencia

$$P = \frac{dw}{dt} = iv \quad (20)$$

Asumiendo que la energía disipada se transforma exclusivamente en calor, se tiene que el calor generado Q_{gen} es igual al producto de la potencia por el intervalo de tiempo Δt que circula la corriente

$$Q_{gen} = iv\Delta t \quad (21)$$

Si el elemento conductor es metálico, se cumple la relación

$$v = ri \quad (22)$$

conocida como *ley de Ohm*, donde r es la resistencia del material, y la ecuación se convierte en

$$Q_{gen} = ri^2 \Delta t \quad (23)$$

en esta ecuación se puede observar que controlando el intervalo de tiempo que circula la corriente por la resistencia es posible controlar la cantidad de calor que se produce.

2.2.3 Transferencia de calor. El calor se transfiere por tres procesos distintos: conducción, convección y radiación, dependiendo de las condiciones del sistema. Dada las interacciones entre una fuente de calor y los elementos que componen su entorno, la mayoría de procesos involucran más de un mecanismo a la vez. A continuación se describe cada uno de los procesos de transferencia de calor.

2.2.3.1 Conducción. Desde el punto de vista termodinámico, la transición que sufre un sistema de un estado estacionario a otro está acompañada de una variación en su energía interna.

La conducción de calor que se presenta en un estado transitorio se puede determinar mediante la ecuación

$$\frac{1}{\alpha} \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla^2 T, 0 \leq x < L_x, 0 \leq y < L_y, 0 \leq z < L_z \quad (24)$$

donde α es la difusividad térmica, T es la temperatura, t es el tiempo, y L_x, L_y, L_z representan las dimensiones del material. Esta ecuación no siempre se puede resolver de forma analítica, por lo que se hace necesario recurrir a métodos numéricos que permiten obtener una solución aproximada o a realizar suposiciones que simplifiquen el problema [5].

Cuando un material se coloca en contacto directo con una fuente, la transmisión de calor se hace por medio del proceso de conducción y se describe utilizando la ley de Fourier, que matemáticamente se expresa como

$$\vec{j} = -K\nabla T \quad (25)$$

donde \vec{j} es la energía transmitida a través de una unidad de área por unidad de tiempo, K es el coeficiente de conductividad térmica del material, T es la temperatura y x la dirección de propagación. El valor de K es una propiedad del material y dependiendo de él, la conducción es mayor o menor, a iguales condiciones [6].

2.2.3.2 Convección. La convección es el proceso mediante el cual el calor se transfiere en un medio conformado por un fluido e involucra dos procesos simultáneos, el primero es la transferencia de energía generada por el movimiento molecular, mientras que el segundo proceso está determinado por el movimiento macroscópico de fracciones del fluido, cada una integrada por un gran número de moléculas que se mueven bajo la acción de una fuerza externa.

La transferencia de calor por convección depende de la densidad, la viscosidad y la velocidad del fluido, lo mismo que de sus propiedades térmicas.

2.2.3.3 Radiación. La radiación es la emisión de energía que realiza un cuerpo en función de la temperatura absoluta que caracterice su estado termodinámico. La cantidad de calor que se emite por un cuerpo depende de la temperatura y de la naturaleza de la superficie radiante. Los cuerpos que emiten o absorben la totalidad de la energía radiante que incide sobre ellos se denominan cuerpos negros y son un modelo idealizado del radiador perfecto. Un cuerpo negro emite calor a una razón de

$$q = \sigma AT^4 \quad (26)$$

donde A es el área de la superficie, T es su temperatura absoluta y σ es la constante de Estefan-Boltzmann, cuyo valor es $\sigma = 5.67 \cdot 10^{-8} \frac{W}{m^2 K^4}$. A partir de esta ecuación se puede concluir que cualquier cuerpo negro emite radiación cuando se encuentra a una temperatura por encima del cero absoluto y la cantidad de radiación es proporcional a la cuarta potencia de esa temperatura. Si el cuerpo no es un radiador ideal solo emite una fracción ε de su energía total y se le conoce como un cuerpo gris.

Para que exista transferencia de calor entre dos superficies se hace necesario que exista una diferencia de temperatura entre ellas; por lo tanto se hace necesario introducir un factor de forma F_{1-2} que contempla la relación que existe entre la energía radiada por la superficie emisora, que depende de ε , y el flujo de radiación que llega a la superficie receptora. Bajo estas condiciones la transferencia de calor por radiación se puede evaluar a partir de la siguiente ecuación

$$q_r = A_e F_{1-2} \sigma (T_{em}^4 - T_{re}^4) \quad (27)$$

donde q_r es el calor transmitido por radiación en la unidad de tiempo, A_e es el área emisora, T_{em} es la temperatura de la superficie emisora y T_{re} es la temperatura de la superficie receptora. Es de anotar que el factor de forma F_{1-2} depende en gran parte de la disposición geométrica de las superficies y de su naturaleza radiante.

CAPITULO TRES

3. DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DEL COAGULOMETRO SM47

3.1 REQUERIMIENTOS

El instrumento implementado para la medida de tiempos de coagulación debe cumplir las condiciones específicas de ubicación de las muestras en una posición concéntrica respecto al orificio y los componentes del sistema de análisis óptico, manutención de muestras en un rango de $37,0^{\circ}\text{C}\pm 0,2^{\circ}\text{C}$, análisis no destructivo de las muestras mediante un láser de baja potencia con una longitud de onda a la cual el plasma presente un alto porcentaje de absorbancia, amplificación de la señal proveniente del láser e incidente en la muestra por medio de una lente, adquisición de datos por medio de un foto-sensor centrado en la longitud de onda del láser, temporización de la variación de intensidad registrada durante la realización de las pruebas de TP, TPT y TT, visualización de datos por medio de una pantalla y almacenamiento de datos en PC.

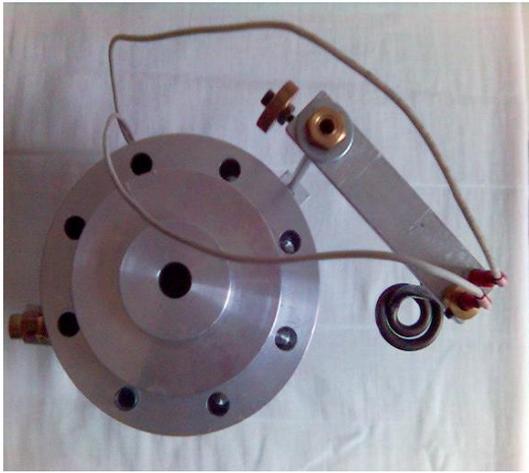
De manera adicional y para mayor comodidad en la ubicación del equipo en el laboratorio y manipulación y transporte del mismo para la prestación de servicios a otros centros de salud, el coagulómetro debe tener un tamaño y un peso adecuados, es decir debe ser portátil.

3.2 DISEÑO

En la figura 3.1 se muestra el coagulómetro SM47 y los sistemas que lo conforman.



a.



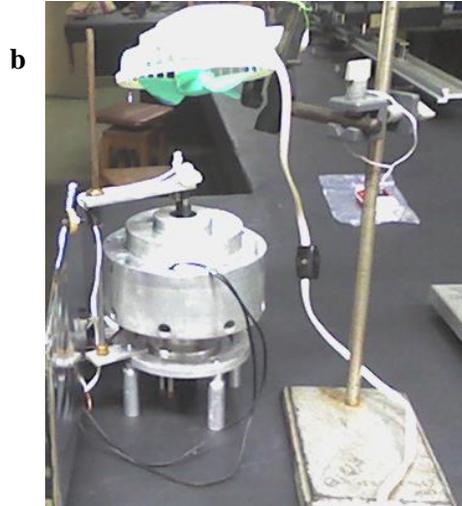
b.



c.



d.



e.

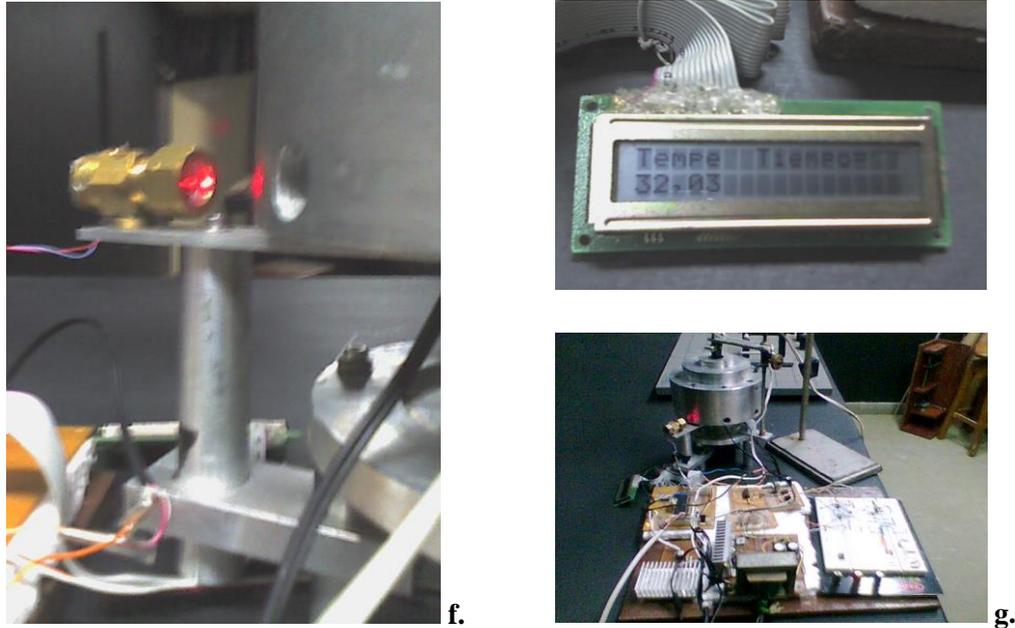


Figura 3.1. Coagulómetro SM47. **a.** Vista frontal del coagulómetro SM47. **b.** Vista de planta del coagulómetro SM47. **c.** Recipiente porta-muestras. **d.** Sistema de ubicación y rotación de las muestras. **e.** Sistema de control de temperatura. **f.** Sistema de análisis óptico. **g.** Sistema de adquisición y almacenamiento de datos.

El coagulómetro SM47 está dividido en 5 sistemas que fueron implementados de forma independiente ya que la evaluación del funcionamiento de un sistema no requería de los demás a excepción de la última etapa que consistió en el desarrollo del programa que controla las demás etapas.

- Recipiente porta-muestras.
- Sistema de ubicación y rotación de muestras.
- Sistema para el control de temperatura.

- Sistema de análisis óptico.
- Sistema de adquisición y almacenamiento de datos.

A continuación se hace una breve descripción de los sistemas que conforman el coagulómetro SM47.

3.2.1 Recipiente porta-muestras. El recipiente porta-muestras (figura 3.2) tiene forma de cilindro vertical, está ubicado sobre un soporte y está unido a él por medio de unos rodamientos para facilitar su rotación y la ubicación de las muestras (sección 3.2.2). Tanto el recipiente como el soporte son de aluminio.

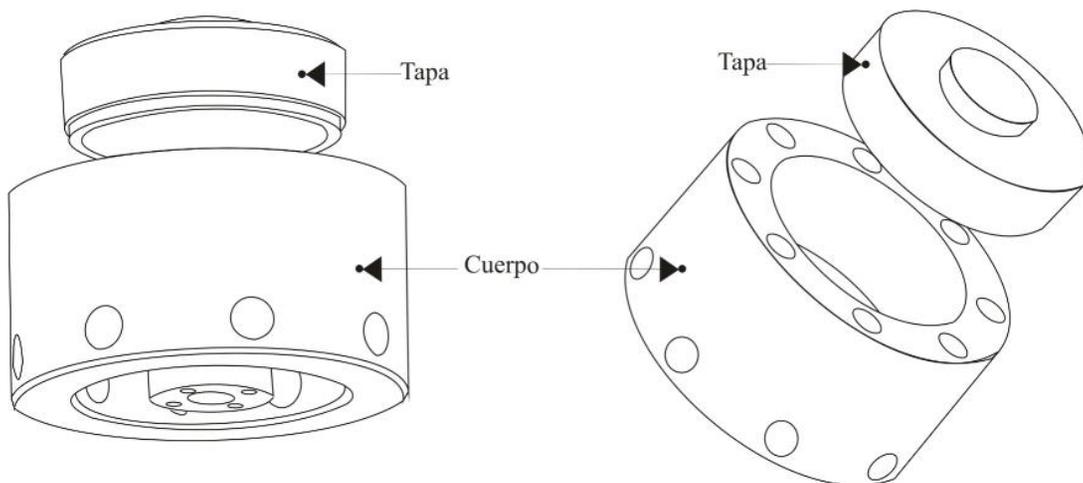


Figura 3.2. Recipiente porta-muestras.

La forma del recipiente se estableció a partir de los requerimientos para el control de temperatura entre los cuales está garantizar la transferencia radial de calor hacia las muestras de manera simultánea. El recipiente tiene una capacidad para contener 400ml de agua también destinados para el control de temperatura. Además tiene una tapa para sellar semi-herméticamente el recipiente y evitar la pérdida de calor por contacto con el ambiente.

Pensando también en el buen desempeño del control de temperatura, se escogió el aluminio en la elaboración del recipiente ya que este material tiene una alta conductividad térmica; adicionalmente permite el contacto con el agua con mínimo riesgo de oxidación, soporta grandes temperaturas sin llegar a la fundición, es altamente resistente y liviano, lo que facilita el funcionamiento del sistema de rotación.

Alrededor del contenedor de agua (figura 3.3) se perforaron ocho orificios ubicados simétricamente, lo que constituyó otra razón por la cual se determinó la forma del recipiente. En el interior de cada orificio se introduce un tubo porta-muestra. Además en la parte inferior de cada uno de los ocho orificios se perforó otro orificio de menor diámetro al nivel de la muestra, para la realización del análisis óptico; es decir, la irradiación del plasma con el láser y la continua revisión de la variación de la intensidad.

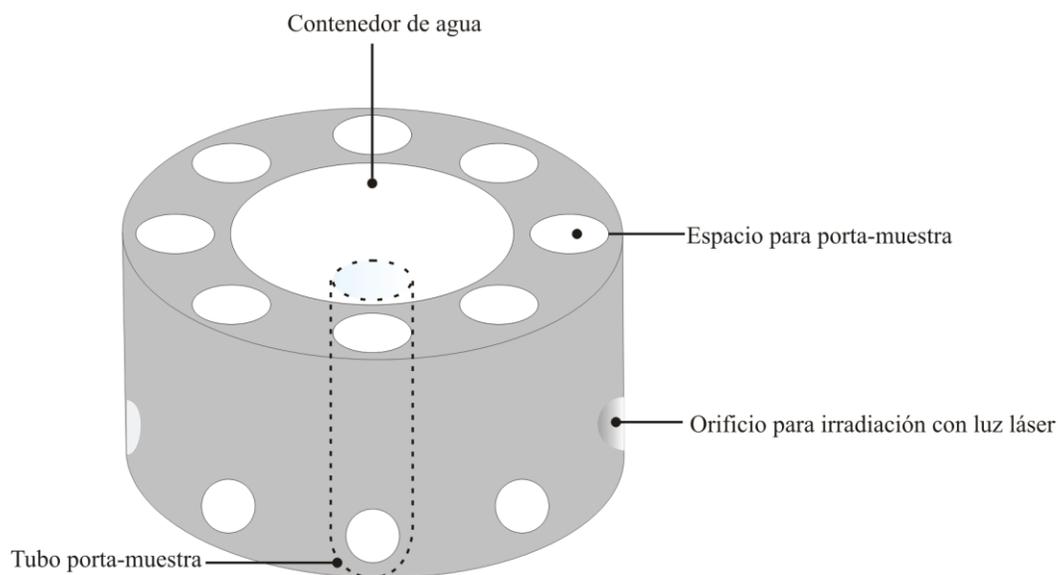


Figura 3.3. Ubicación de los tubos en el recipiente porta-muestras

La parte superior de los tubos porta-muestras se dejó descubierta para un fácil acceso y manipulación de ellos, lo que incluye su ubicación y la adición de reactivos al plasma,

como se observa en la figura 3.3. Este último aspecto fue la principal causa para decidir la forma de la tapa del recipiente, ya que los reactivos deben ser adicionados inmediatamente antes de la prueba mediante pipetas cuyas puntas varían de tamaño de acuerdo al tipo de prueba.

Las dimensiones del recipiente porta-muestras se muestran en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Dimensiones del recipiente porta-muestras

Característica	Valor
Diámetro interno	11,3cm
Diámetro externo	16,0cm
Altura interna	4,8cm
Altura externa	7,0cm
Capacidad volumétrica	400cc

Las dimensiones de los orificios en los cuales se ubican los tubos porta-muestras son las siguientes: radio de 0,7cm, altura de 6,5cm y las dimensiones de los tubos porta-muestras, elaborados en vidrio crown, son: diámetro de 1,2cm y una altura de 7,5cm. Además en la parte inferior se perforaron pequeños orificios a la altura de la muestra para la realización del análisis óptico (sección 3.2.4).

3.2.2 Sistema de rotación y ubicación de las muestras. El posicionamiento de las muestras, se llevó a cabo de acuerdo al esquema de la figura 3.4. Para ubicar las muestras se van rotando los tubos en sentido anti-horario en ángulo de 45° por muestra. El orificio número ocho fue designado para la ubicación del sensor de temperatura.

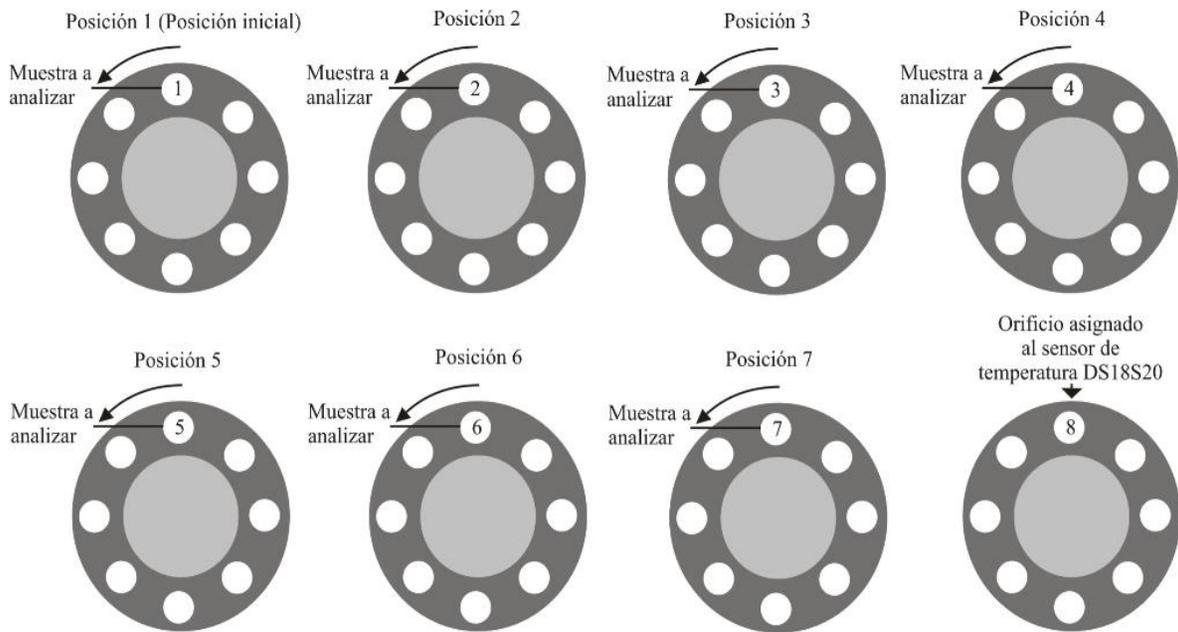


Figura 3.4. Esquema para la ubicación de las muestras.

Debido a la gran importancia de la precisión en la posición, exigida por el tipo de análisis, se utilizó un servomotor parallax (figura 3.5a), que permite un giro de 360° ya que es continuo y se puede ajustar manualmente (figura 3.5b).



Figura 3.5. a. Servomotor Parallax, parte posterior y vista lateral b. Control de ajuste manual del servomotor, tornillo ubicado en la parte frontal.

En la parte b de la figura 3.5 el destornillador apunta al ajuste manual del motor que es el mismo que se observa en la parte frontal, es decir la primera figura de la parte b.

Las especificaciones técnicas del servomotor se presentan en la tabla 3.2.

Tabla 3.2. Especificaciones técnicas del servomotor parallax.

Especificación	Valor
Voltaje máximo de alimentación	6Vdc
Velocidad (Con alimentación de 5Vdc y sin torque)	60rpm
Peso	45.0gramos
Torque	3.40Kg cm
Dimensiones (LxAxH)	40.5x20.0x38.0mm

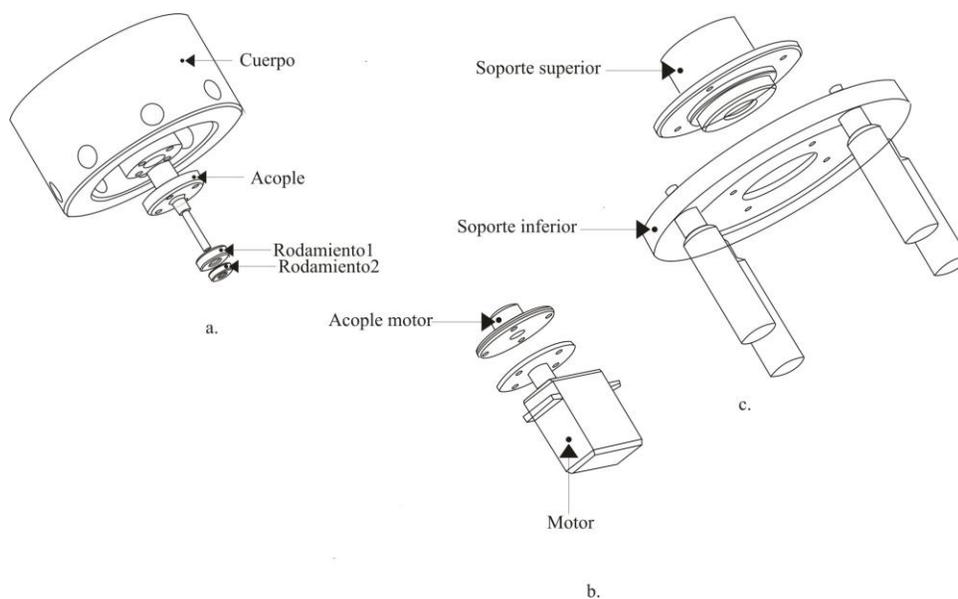


Figura 3.6. Acople y sistema de rodamientos para el servomotor. **a.** Parte superior al soporte superior. **b.** Parte inferior al soporte inferior. **c.** Soportes superior e inferior

El motor está ubicado en la parte inferior del recipiente contenedor de agua a través de un acople y rodamientos que facilitan el movimiento del servomotor al disminuir el peso sobre

este y por consiguiente la fuerza ejercida por él (Figura 3.6). Además el uso de este motor permitió un movimiento lento y controlado del sistema para evitar fluctuaciones bruscas en el agua y por tanto variaciones imprevistas de temperatura.

3.2.3 Sistema para el control de temperatura. La implementación de este sistema fue necesaria debido a que las pruebas relacionadas con el proceso de la coagulación deben realizarse a la misma temperatura que presenta el cuerpo humano en condiciones normales la cual toma un valor de $37,0^{\circ}\text{C}\pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

El diagrama de bloques del control de temperatura se muestra en la figura 3.7. Inicialmente se activa la resistencia encargada del calentamiento del agua contenida en el recipiente porta-muestras y permanece así hasta que la temperatura en los orificios donde están ubicadas las muestras alcancen una temperatura de $34,8^{\circ}\text{C}$, después de esto se desactiva la resistencia y la temperatura en los orificios donde están ubicadas las muestras sigue subiendo hasta un valor de $37,2^{\circ}\text{C}$ por efectos de la inercia. En ese momento se activa el ventilador para bajar la temperatura en los orificios hasta $36,8^{\circ}\text{C}$ y en ese valor de temperatura se vuelve a activar la resistencia hasta alcanzar un valor de temperatura de $37,2^{\circ}\text{C}$, se vuelve a activar el ventilador y se repite el proceso durante la realización de las pruebas de TP, TPT y TT, garantizando la temperatura dentro del rango de $37,2^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

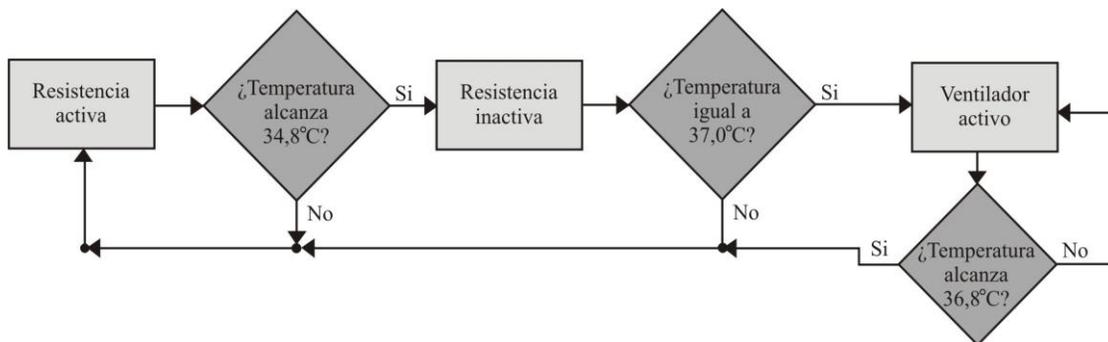


Figura 3.7. Diagrama de bloques del control de temperatura.

Los componentes principales del control de temperatura son una resistencia tipo cartucho que maneja una potencia de 400watts a 110V, un ventilador que trabaja a 110V y el sensor DS18S20 [7] cuyas características se presentan en la tabla 3.3

Tabla 3.3. Especificaciones acerca del sensor DS18S20

Voltaje de alimentación	3,0V a 5,5V
Temperatura	-55,0°C a 125,0°C
Precisión en el rango de temperatura de -10,0°C a 85,0°C	$\pm 0,5^\circ\text{C}$
Resolución	9 bits
Tiempo máximo de conversión de temperatura	750ms

3.2.3.1 Caracterización del control de temperatura. La transferencia de calor a través del recipiente porta-muestras puede describirse asumiendo que debido a la geometría del calentador, que consiste de una resistencia tipo cartucho, el calor es difundido en dirección radial, por consiguiente se tiene una distribución uniforme de temperatura hacia los tubos porta-muestra y se puede decir que la temperatura es creciente de manera simultanea en los ocho tubos. Este efecto simplifica el análisis del sistema de calentamiento/enfriamiento limitándolo a un problema que depende del tiempo y de la posición. Los dispositivos que conforman el sistema de control de temperatura pueden observarse en las fotos incluidas en la figura 3.8. En las dos primeras fotos de la figura 3.8 se puede observar la resistencia encargada del calentamiento del agua y en la tercera foto de la misma figura se muestra el sistema de refrigeración.

Los modos de transferencia de calor predominantes en el sistema de control de temperatura del coagulómetro SM47 son la conducción y la convección.



Figura 3.8. Dispositivos que componen el sistema de control de temperatura.

Al tratarse de un proceso de transición en el cual la temperatura en un punto del sistema varía con el tiempo, el análisis que corresponde es uno en estado transitorio.

El proceso de transferencia de calor en el sistema de control de temperatura del coagulómetro SM47, se describe a partir de un modelo netamente empírico; es decir, no se estableció inicialmente un modelo teórico para la implementación del sistema térmico debido a la complejidad que introduce la geometría del sistema y las condiciones variantes del mismo en la solución de la ecuación de difusión de calor.

Dadas las propiedades de conductividad térmica de los materiales seleccionados para el control de temperatura del coagulómetro, se sabe que el agua transfiere calor por conducción con una velocidad menor que el aluminio; sin embargo, el sistema completo, compuesto por el cilindro de aluminio y el volumen de agua, presenta una transferencia de calor uniforme durante la etapa de calentamiento y presenta una buena reproducibilidad lo que permitió establecer los parámetros de transferencia de calor.

La caracterización del control de temperatura se realizó con la ayuda de dos sensores de PHYWE los cuales tienen una interfaz que permite el ingreso directo de los datos al programa Measure de PHYWE, para ser graficadas.

La caracterización del control de temperatura se realizaron en el contenedor de agua del coagulómetro, registrando la temperatura en el punto central de éste donde se halla la resistencia, que corresponde a la curva negra en las gráficas de temperatura contra tiempo realizadas en esta etapa de diseño, y en uno de los orificios donde se ubican los tubos porta-muestra, que corresponde a la curva roja en las mismas gráficas.

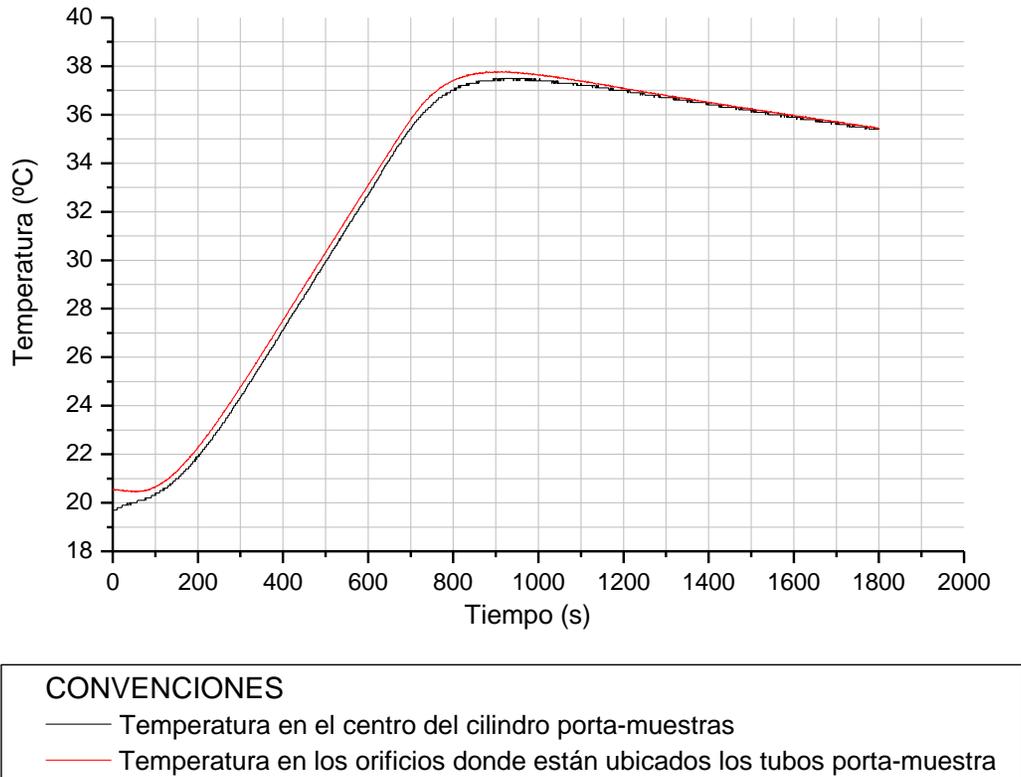


Figura 3.9. Caracterización del sistema de control de temperatura sin sistema de refrigeración

En la figura 3.9 se observan los resultados de la caracterización de la etapa de calentamiento y enfriamiento del sistema recipiente-agua del control de temperatura en ausencia del ventilador. Las condiciones iniciales de temperatura: en el centro, curva negra, 19,8°C y en el orificio donde se ubican los tubos porta-muestras, curva roja, 20,4°C.

Como se muestra en la figura 3.9 el aumento de temperatura presentó igual comportamiento tanto en el centro como en el exterior del recipiente porta-muestras.

El calentamiento se realizó hasta que la temperatura alcanzó un valor de 34,8°C y luego por efectos de la inercia la temperatura se elevó hasta 37,5°C en el centro del recipiente y 37,9°C en el borde del recipiente. Después la temperatura decreció tomando el mismo valor de 35,5°C tanto en el centro como en el exterior en un tiempo de 15 minutos. Como puede deducirse de la figura 3.9 el periodo de enfriamiento es muy demorado y al realizar varias veces el mismo procedimiento se obtuvieron subidas de temperatura hasta diferentes valores, esto impedía establecer un único valor para desactivar la resistencia y alcanzar la temperatura deseada de 37,0°C por efectos de la inercia, que también varió dependiendo de las condiciones climáticas. Por tanto, fue necesario incluir el ventilador como sistema de refrigeración disminuyendo la temperatura en unos pocos segundos.

La caracterización del control de temperatura se realizó cambiando la ubicación del sensor entre los diferentes orificios en los cuales se ubican las muestras comprobando la transferencia radial de calor y garantizando que todas las muestras se mantuvieran en el rango de temperatura de 36,8°C a 37,2°C durante un periodo de tiempo suficiente para realizar las pruebas de coagulación. Al realizar calentamientos y enfriamientos sucesivos, se notó la disminución de la inercia lo que contribuyó a la estabilización de la temperatura dentro del rango mencionado.

A partir de la caracterización realizada se determinó que la etapa de calentamiento requiere de aproximadamente 12 minutos para alcanzar el equilibrio térmico y poder llevar a cabo el control de temperatura. Este tiempo puede ser empleado como etapa de preparación para las pruebas de medida de tiempo de coagulación, debido a que éstas requieren de centrifugación, es decir separación de la sangre en sus componentes plasma y suero.

3.2.4 Sistema de análisis óptico. El sistema óptico (figura 3.10) consta de un láser de estado sólido, un fotodetector y una lente bicóncava alineados horizontalmente sobre una lámina de aluminio, mediante unos soportes elaborados en cobre y una fuente de alimentación.

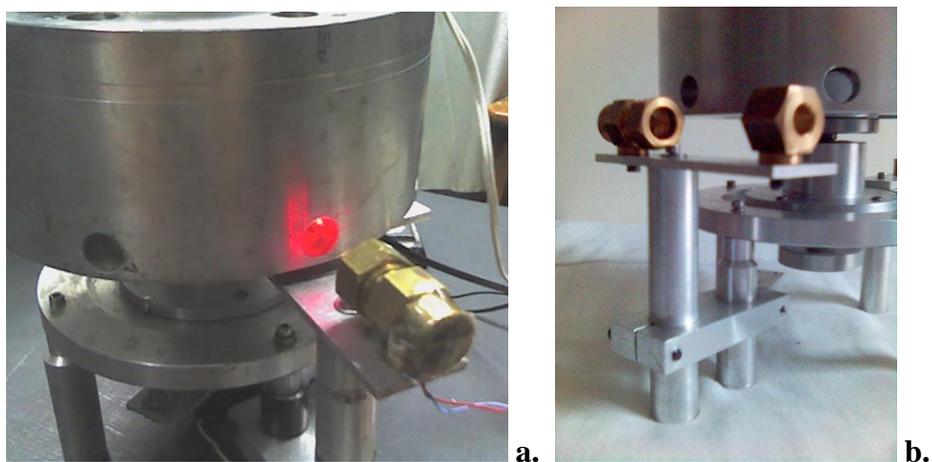
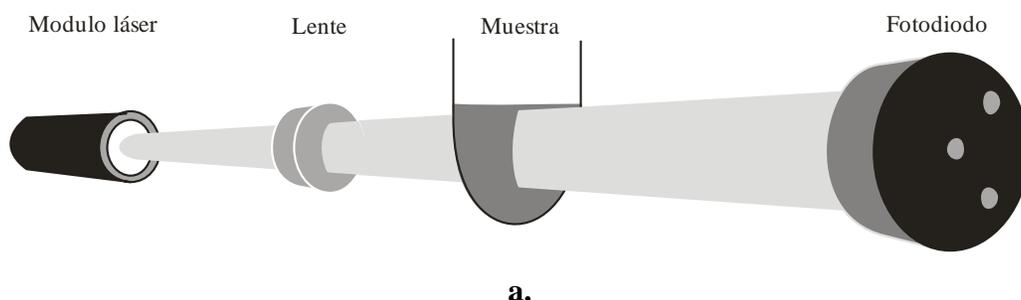


Figura 3.10. a. Esquema del sistema de análisis óptico del coagulómetro SM47. b. Fotos del sistema de análisis óptico del coagulómetro SM47.

A continuación se describen los componentes del sistema de análisis óptico.

3.2.4.1 Láser de estado sólido. El coagulómetro SM47 emplea una técnica no destructiva de análisis, por tanto se implementó el sistema óptico con un láser de estado

sólido de características iguales al tipo de láser manejado en la construcción de coagulómetros comerciales, como el coagulómetro ACL1000.

En la tabla 3.4 se enumeran las especificaciones técnicas del láser de estado sólido DI650-2.5-3 de HUANIC.

Tabla 3.4. Especificaciones técnicas del láser de estado sólido DI650-2.5-3

Especificación	Valor
Longitud de onda	650nm
Voltaje de operación	3Vdc
Potencia de salida	2.5mW
Dimensiones:	
1. Diámetro	0,8cm
2. Longitud	2,1cm

La cantidad de muestra requerida para la medición de tiempos de coagulación es muy reducida, 0.3ml, sin embargo, debe ser irradiada en su totalidad, por ello se utilizó una lente biconvexa de diámetro 1,3cm y grosor 0,1cm.

El láser empleado para irradiar las muestras presenta las características dimensionales detalladas en la figura 3.11.

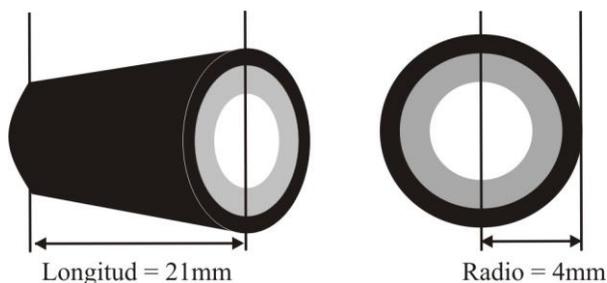


Figura 3.11. Especificaciones del láser de estado sólido utilizado para la determinación de los tiempos de coagulación de plasma sanguíneo.

3.2.4.2 Caracterización del láser DI650-2.5-3. Para la caracterización del láser se utilizó una fuente de alimentación de $3,0V \pm 0,2V$ y un luxómetro digital marca Lutron con precisión de ($\pm 5\%$) en el rango de $0 - 1,999\text{Lux}$, con un offset de 11Lux y se obtuvo la figura 3.12.

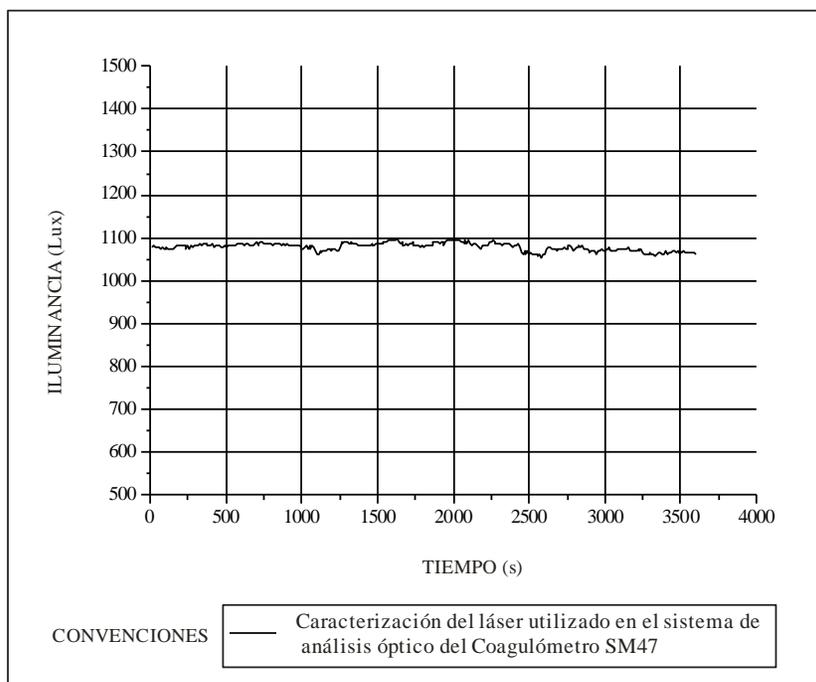


Figura 3.12. Curva de caracterización del láser DI650-2.5-3

En la curva de caracterización del láser se puede observar que éste tiene una respuesta estable para variaciones de $\pm 0,2V$, es decir, la intensidad del haz láser no varía significativamente durante la realización de las pruebas, aumentando la confiabilidad en los resultados, ya que si se presentan variaciones de intensidad en el láser por inestabilidad de la fuente, los resultados pueden ser equívocos.

El procesamiento realizado al haz láser detectado por el fotodiodo del sistema de análisis óptico se muestra mediante el diagrama de bloques de la figura 3.13.

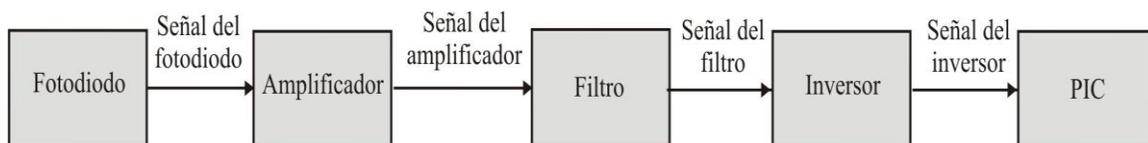


Figura 3.13. Diagrama de bloques del sistema óptico para análisis de TP, TPT y TT.

3.2.4.3 Fotodetector FDS100. Las especificaciones técnicas del fotodetector se refieren en la tabla 3.5.

Tabla 3.5. Especificaciones técnicas del fotodiodo FSD100.

Especificación	Valor
Longitud de onda	650nm
Voltaje de operación	3Vdc
Potencia de salida	2.5mW
Corriente oscura	20nA máx (20V)
Área activa	13,0mm ²
Respuesta espectral	350-1100nm
Tiempo de rizado ($R_L = 50\Omega$)	10ns (20V bias)
Tiempo de caída ($R_L = 50\Omega$)	10ns (20V bias)

Las dimensiones que presenta el fotodiodo FDS100 son: diámetro 0,8cm y longitud 2,1cm.

A continuación se muestra la curva característica del fotodiodo, es decir los valores de responsividad frente a diferentes longitudes de onda. Para este proyecto se utilizó un láser de estado sólido de longitud de onda de 650nm que corresponde al color rojo. A partir de la figura 3.14 se determina que el valor de la responsividad es de 0,42A/W, indicada con la línea punteada.

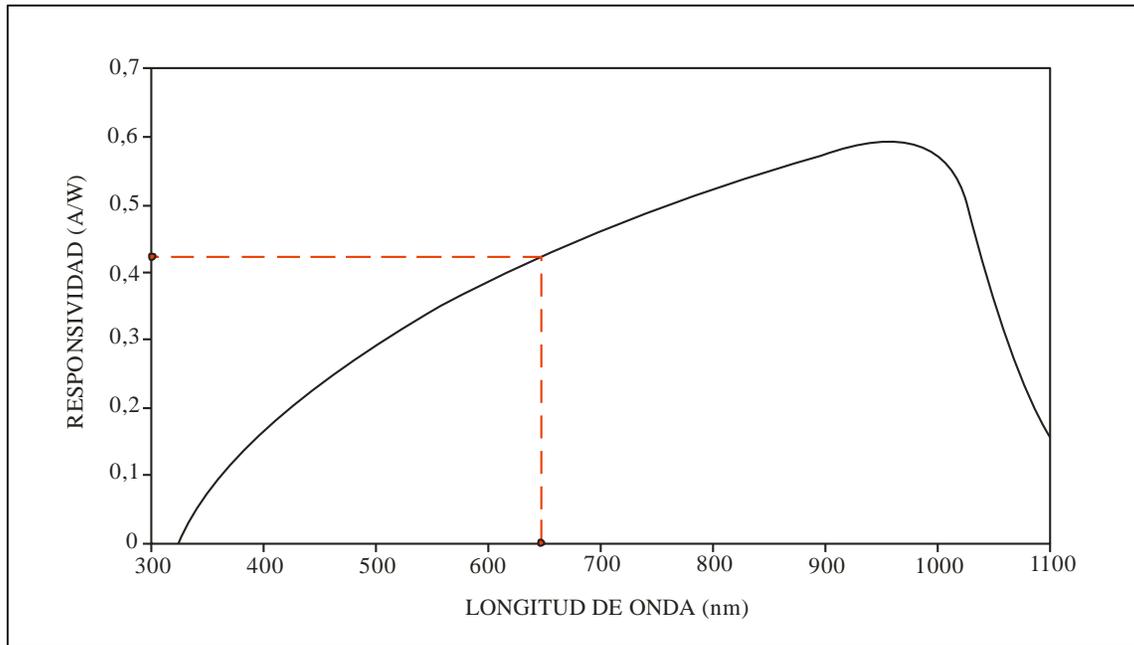


Figura 3.14. Respuesta espectral del fotodiodo p-i-n de Silicio “FDS100” [8].

3.2.4.4 Etapa de amplificación. La señal proveniente del fotodiodo es una corriente, por lo cual se requiere convertirla a voltaje mediante el amplificador operacional LM741 que presenta las características presentadas en la tabla 3.6.

Tabla 3.6. Especificaciones técnicas del amp-op LM741

Especificación técnica	Valor
Rango de temperatura garantizado para el correcto funcionamiento del integrado	0°C a 70°C
Voltaje de alimentación	± 13V
Velocidad de respuesta	0,5 V/μs

3.2.4.5 Etapa de filtrado. La señal entregada por la etapa de amplificación fue afectada notablemente por el ruido originado principalmente en la etapa digital del circuito o en la

fuentes de alimentación que por lo general son ruidos de alta frecuencia, por lo cual se implementó un filtro pasa – bajas con frecuencia de corte de 20Hz.

Para el filtro se utilizó un amplificador operacional AD620 que presenta las características que aparecen en la tabla 3.7.

Tabla 3.7. Especificaciones técnicas del amp–op AD620

Especificación técnica	Valor(a 25°C, ±15V)
Rango de ganancia	1 a 1000
Rango máximo de voltaje de alimentación	(1,1V a 3,8V)()-
Rango de temperatura garantizado para el correcto funcionamiento del integrado	-40°C a 80°C
Velocidad de respuesta	1,2 V/μs

La señal de salida del amplificador es la señal de entrada del filtro y es negativa, como se trata de un filtro no inversor la salida de la etapa de filtrado también es negativa.

Debido a la dificultad de manejar por medio del pic los valores negativos provenientes del filtro se introdujo una etapa inversora utilizando un amplificador operacional LM741.

Finalmente la caja elaborada para el sistema de análisis óptico es de bronce y está sujeta a un soporte fijo y muy estable, independiente del soporte del motor, lo que impidió posibles vibraciones que introdujeran errores en la trayectoria lineal del haz y por tanto en las lecturas hechas por el fotodiodo (figura 3.15).

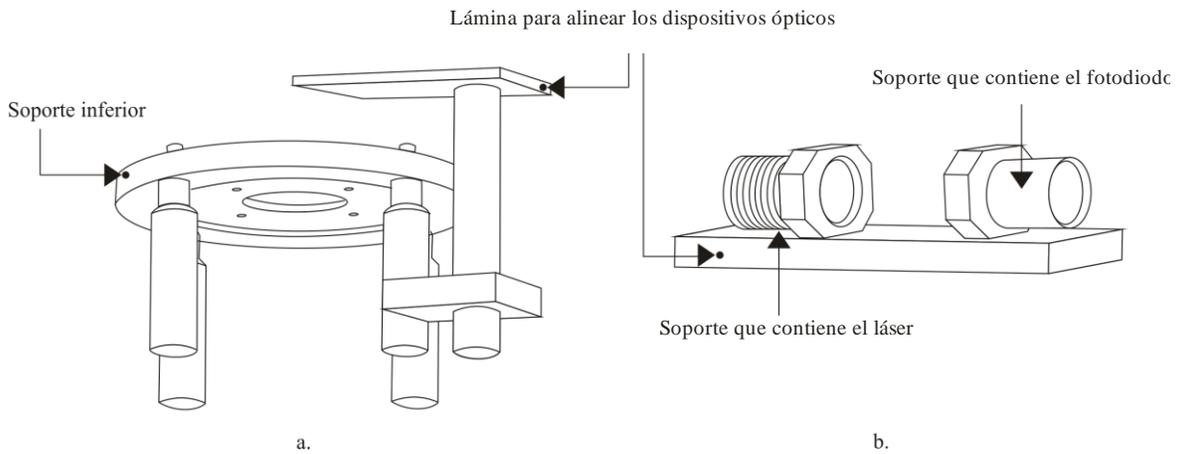


Figura 3.15. Soporte para el sistema óptico para las pruebas de TP, TPT y TT.

3.2.4.6 Caracterización del sistema de análisis óptico del coagulómetro SM47. Para la evaluación del comportamiento del sistema óptico del coagulómetro se utilizó el montaje de la figura 3.16.

La prueba consistió en ubicar un polarizador alineado con el eje de polarización del haz láser y en lugar de la muestra de plasma se colocó un analizador y se fue variando el ángulo de éste cada 5° , desde 0° hasta 165° , al mismo tiempo se registró la intensidad medida primero por medio del sistema de análisis óptico del coagulómetro SM47 y luego por medio de un luxómetro.

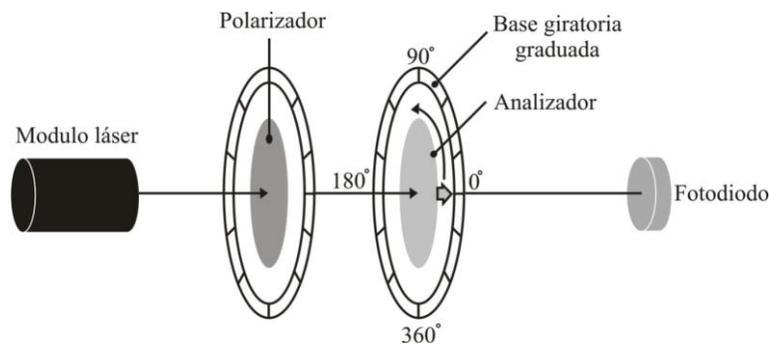


Figura 3.16. Montaje para la realización de pruebas de registro de variación de intensidad utilizando un polarizador.

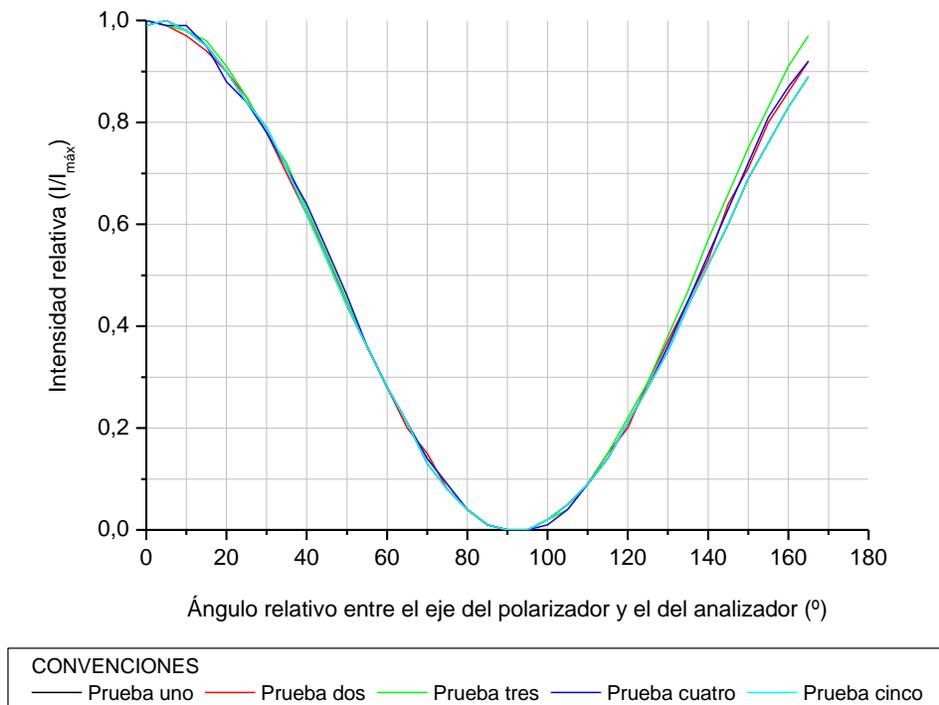


Figura 3.17. Comportamiento del haz láser en el tiempo debido a variaciones de intensidad registradas por medio del sistema de análisis óptico del coagulómetro SM47.

En las figuras 3.17 y 3.18 los valores de intensidad relativa respecto al valor máximo de intensidad de cada grupo de medidas contra el tiempo. Las intensidades relativas fueron calculadas a partir de los valores de iluminancia registrados por medio del sistema de análisis óptico del coagulómetro SM47 y por medio de un luxómetro, al hacer variaciones en el ángulo relativo entre el eje del analizador y el eje del polarizador (figura 3.16).

La figura 3.17 permite observar claramente la reproducibilidad en el comportamiento que presenta el sistema de análisis óptico del coagulómetro, al registrar la intensidad para un mismo ángulo en pruebas diferentes.

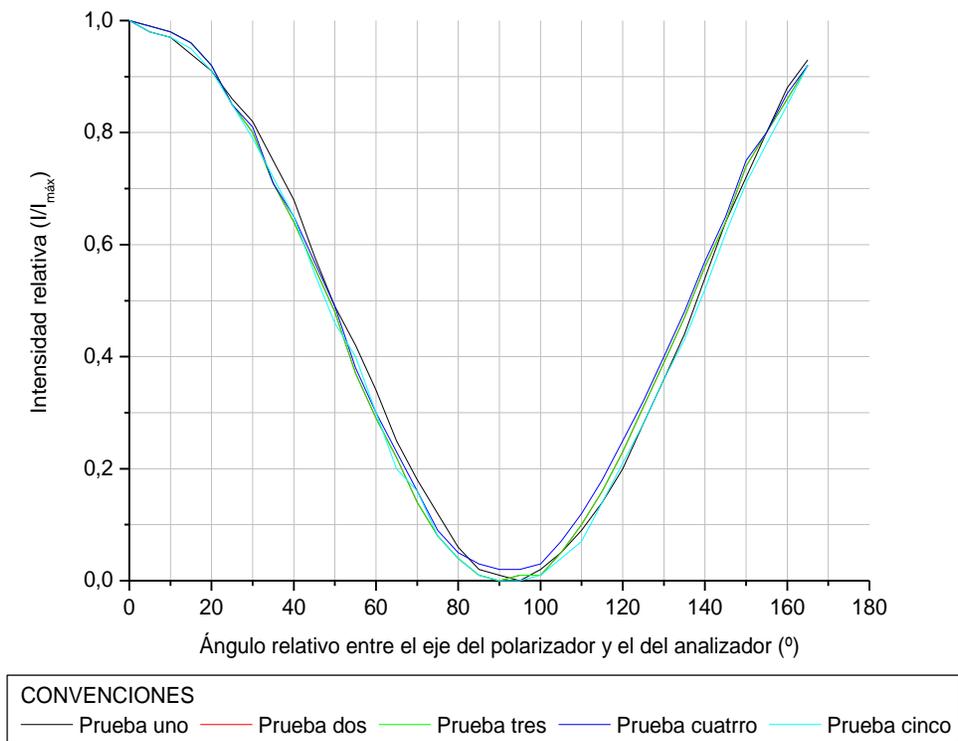


Figura 3.18. Comportamiento del haz láser en el tiempo debido a variaciones de intensidad registradas por medio de un luxómetro.

Con el fin de establecer un patrón de comparación y así comprobar el buen desempeño del sistema óptico del coagulómetro, se realizaron mediciones del mismo tipo, pero utilizando como detector un luxómetro y los resultados obtenidos se presentan en la figura 3.17.

Las figuras 3.17 y 3.18 presentan el mismo comportamiento, y es también el que se espera de manera general en la realización de pruebas de tiempos de coagulación aunque solo en la fase decreciente, ya que al formarse el coágulo la intensidad decrece pues disminuye la transmitancia al aumentar el porcentaje de absorción.

Teóricamente en las figuras 3.17 y 3.18, los valores máximos de intensidad se deben obtener para ángulos entre analizador y polarizador de 0° y 180° , mientras que su mínimo se debe presentar a 90° ya que para este ángulo el eje de polarización del láser se encuentra totalmente perpendicular al eje de polarización del analizador; para esta caracterización las mediciones de intensidad relativa se realizaron entre 0° y 165° , detectándose los máximos en estos extremos y los mínimos en 90° tanto para las pruebas realizadas con el sistema óptico del coagulómetro (figura 3.17) como para las pruebas registradas por medio del luxómetro (figura 3.18). Las pequeñas desviaciones que se observan en las gráficas para las intensidades en 0° y en 165° se deben a que resulta muy difícil alinear adecuadamente los ejes de polarizador y el analizador al iniciar las medidas.

La caracterización del sistema de análisis óptico permitió concluir que esta etapa del coagulómetro cumple con los requerimientos propuestos y es capaz de detectar pequeñas variaciones de intensidad con una buena reproducibilidad bajo las mismas condiciones externas durante las pruebas de TP, TPT y TT.

3.2.5 Sistema de adquisición y almacenamiento de datos. El elemento central del coagulómetro SM47 es el microcontrolador PIC 18F452 en donde se ejecuta un programa escrito en ANSI C bajo la herramienta de desarrollo MPLABC18, el cual se encarga de desplegar mensajes en la pantalla LCD, genera las señales de control para la resistencia, el fotodetector y el sensor de temperatura, además proporciona una interfase para la adquisición y almacenamiento de datos por computador a través del puerto paralelo.

A continuación se observa el algoritmo que describe el funcionamiento del coagulómetro SM47

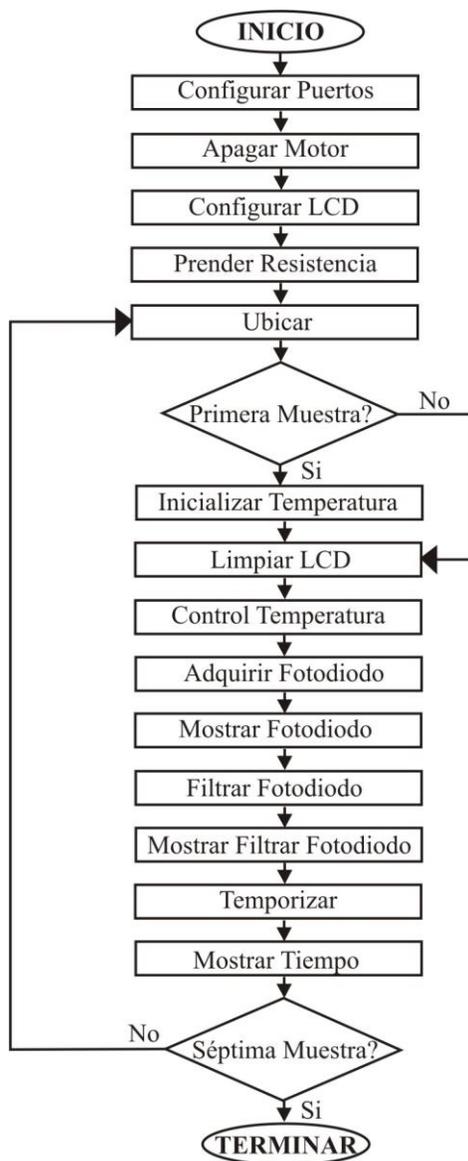


Figura 3.19. Algoritmo que describe el funcionamiento del coagulómetro SM47

El puerto B fue asignado para la pantalla LCD, el puerto C para la resistencia y el motor y el puerto D empleado para la adquisición y almacenamiento de datos por computador.

Luego se ejecuta la función **“apagar motor”** que mantiene temporalmente inmóvil el motor mientras se configuran valores para el manejo de temperatura.

Al elegir la opción **“configurar LCD”**, la cual se configura como un módulo, es decir, una función aparte, determina de qué manera se va a realizar la entrada de datos a la pantalla, la asignación de cada pin y su resolución. Esta configuración se realiza fácilmente por medio de las librerías existentes en MPLABC18.

Una vez configurada la pantalla se introduce un mensaje con el nombre de las variables a controlar y determinar.

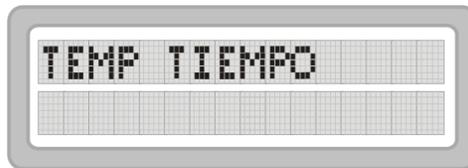


Figura 3.20. Configuración de pantalla LCD

Una rutina igualmente importante es **“prender resistencia”** en la cual se envía un uno al pin tres del puerto C para activar al Triac BT136 que permite el paso de voltaje para poner en funcionamiento la resistencia.

Adicionalmente existe la función **“iniciar temperatura”** que registra los valores de temperatura desde que se activa la resistencia hasta que el sistema alcance una temperatura de 34,8°C, en este momento se desactiva la resistencia pero la temperatura sigue subiendo. Después de esta iniciación la temperatura es controlada a través de otra función.

Para la ubicación de las muestras, existe la opción **“ubicar”**. Esta función desplaza el motor algunos pasos registrando la respuesta del fotodiodo que es muy baja o nula mientras

no halla un orificio. Cuando el fotodiodo indica la incidencia del rayo láser sobre su superficie el motor da pasos más cortos en busca del punto donde se registre la mayor intensidad posible a través del tubo, esperando sea en el centro de éste. Los máximos valores de intensidad no son los mismos para todos los tubos y orificios, es por eso que se optó por trabajar con un solo orificio que permitiera la mejor ubicación del tubo. La rutina **“ubicar”** además de utilizar la lectura del sensor, emplea también la función **“base tiempo”** encargada de la rotación del motor en pasos más pequeños o más grandes, según se requiera.

En seguida encontramos la función **“limpiar LCD”**, la cual es necesaria para refrescar la pantalla, ya que se pueden producir errores por almacenamiento de datos anteriores.

La opción **“control de temperatura”** es una función que consiste en un control ON-OFF, el cual realiza un continuo monitoreo de temperatura, si esta es mayor de 37,0°C la resistencia se apaga y se activa el ventilador; si la temperatura es menor de 36,8°C se apaga el ventilador y se activa la resistencia, esto se lleva a cabo para garantizar que la temperatura oscile alrededor de 37.0°C.

El paso siguiente es adquirir el valor entregado por el fotodiodo FDS100 y visualizarlo en la LCD por medio de las funciones **“adquirir fotodiodo”** y **“mostrar fotodiodo”** respectivamente.

La función **“temporizar”** sirve para activar el temporizador cuando detecta el cambio de intensidad por adición del reactivo y lo detiene cuando se forma el coágulo; es decir, cuando la intensidad a través del tubo tenga un porcentaje de disminución, entregando el tiempo (en segundos) en que esto ocurre a la función **“mostrar tiempo”** que se encarga de visualizar el dato tiempo en la LCD.

Finalmente se llama a la función “**mostrar dato al PC**” para colocar el valor del tiempo obtenido en el puerto D permitiendo ingresar los datos en un banco de datos creado en el programa Excel, donde aparece la fecha, nombre del paciente, tipo de prueba y el tiempo.

3.2.6 Procedimiento para la realización de las pruebas de coagulación con el coagulómetro SM47. En esta sección se describe detalladamente el funcionamiento del coagulómetro SM47 para la realización de las pruebas de TP, TPT y TT.

3.2.6.1 Tiempo de protrombina (TP)

- Precalentar a $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ los tubos de ensayo.
- Para la reconstitución y conservación del reactivo deberán seguirse las instrucciones indicadas por el fabricante.
- Precalentar a $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ una cantidad de 0.2 ml de reactivo por cada prueba.
- Evitar la evaporación del reactivo no dejándolo a $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por un tiempo superior a 60 minutos.
- Realizar por duplicado cada prueba iniciando con el control normal.
- Pipetear 0.1 ml de plasma en el tubo correspondiente.
- Incubar el plasma 2-3 minutos mínimo y máximo 10 minutos.
- Pipetear 0.2 ml de reactivo preincubado

Nota: El registro del tiempo se realiza desde el instante de adición de reactivo hasta la formación del coágulo.

3.2.6.2 Tiempo parcial de tromboplastina (TPT)

- Precalentar a $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ los tubos de ensayo.
- Para la reconstitución y conservación del reactivo deberán seguirse las instrucciones indicadas por el fabricante.
- Realizar por duplicado cada prueba iniciando con el control normal.
- Calentar a $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ un volumen suficiente de cloruro de calcio 0.025M.
- Disponer 0.1ml de reactivo en cada tubo.
- Añadir 0.1ml de plasma al tubo correspondiente e incubar de 3 a 5 minutos.
- Añadir 0.1ml de cloruro de calcio 0.025M precalentado $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$.

3.2.6.3 Tiempo de trombina (TT)

- Realizar todas las pruebas por duplicado.
- Dispensar en tubos adecuadamente marcados y precalentados a $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ una cantidad de 0.2ml de plasma del paciente.
- Incubar mínimo 2 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ y dispensar 0.2ml de trombina.

CAPITULO CUATRO

4 ANÁLISIS Y RESULTADOS

4.1 PORCENTAJES DE ABSORCIÓN, REFLEXIÓN, ESPARCIMIENTO Y TRANSMISIÓN DEL PLASMA HUMANO

Para realizar las pruebas de TP, TPT y TT con el coagulómetro SM47 fue necesario conocer algunas propiedades ópticas del plasma humano tales como los porcentajes de absorción, reflexión, esparcimiento y transmisión frente a un haz láser de longitud de onda de 650nm. Para este fin se utilizó un divisor de haz, luxómetros, un láser de longitud de onda de 650nm, plasma humano y reactivos empleados por el laboratorio de Hematología para las pruebas de coagulación.

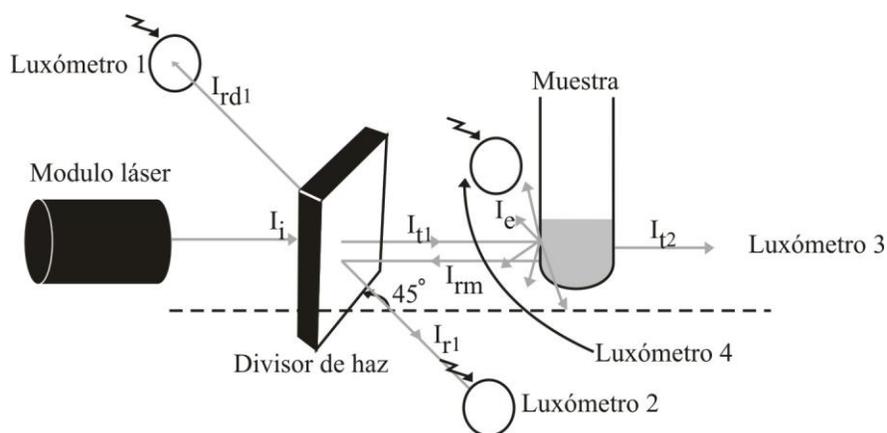


Figura 4.1. Montaje experimental para la determinación de los porcentajes de esparcimiento, transmisión, reflexión y absorción del plasma humano.

4.1.1 Determinación experimental de las propiedades ópticas del plasma humano relacionadas con el proceso de la coagulación. El objetivo fundamental de la determinación de los porcentajes de esparcimiento, transmisión, reflexión y absorción del plasma humano es la verificación del comportamiento de la intensidad del haz láser sobre la muestra. En esta etapa se utilizó el modelo que se observa en la figura 4.1.

4.1.1.1 Caracterización del divisor de haz. Esta caracterización se llevó a cabo a partir del montaje experimental de la figura 4.2, en el cual se observan: un láser con longitud de onda de 650nm, un divisor de haz y fotodetectores centrados en la longitud de onda respectiva. Este montaje fue aislado mediante una caja negra para disminuir el ruido ocasionado por las condiciones de iluminación a las que se encuentra sometido el Laboratorio de Hematología.

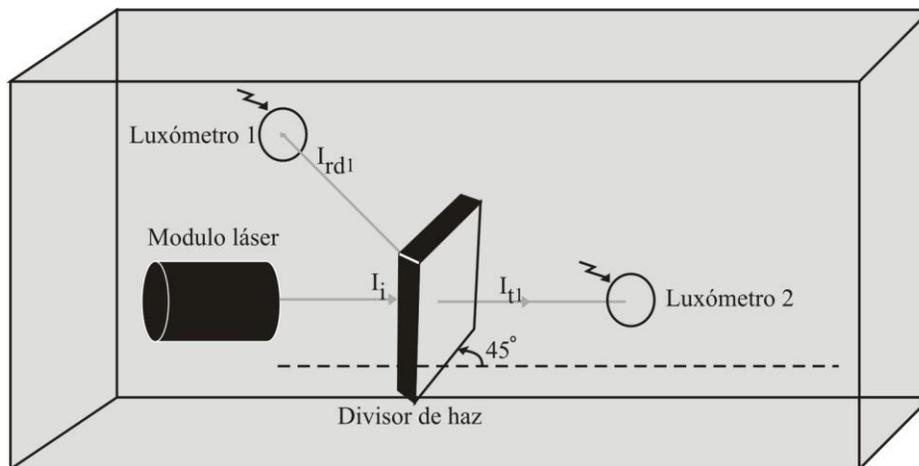


Figura 4.2. Montaje experimental para la caracterización del divisor de haz.

Los luxómetros con los cuales se registraron los valores de iluminancia para determinar los porcentajes de transmisión y reflexión del divisor de haz se ubicaron cuidadosamente en posición perpendicular al haz incidente y a una misma distancia de la fuente de iluminación (Figura 4.3). Primero se tomó la iluminancia E a una distancia R (15cm) del láser.

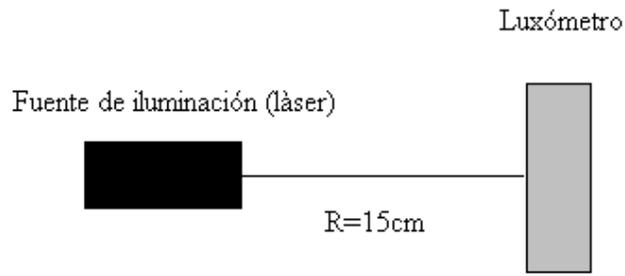


Figura 4.3. Ubicación del luxómetro para registrar valores de iluminancia del haz incidente en el divisor.

Luego a esa misma distancia de 15cm se ubicó el divisor de haz formando un ángulo de 45° respecto a la dirección de incidencia del haz láser. Nuevamente a una distancia de 15cm medida a partir del divisor de haz y ubicando los luxómetros con un ángulo de 90° respecto a los haces incidentes, correspondientes al haz reflejado y al haz transmitido por el divisor, se realizaron medidas de iluminancia (Figura 4.4).

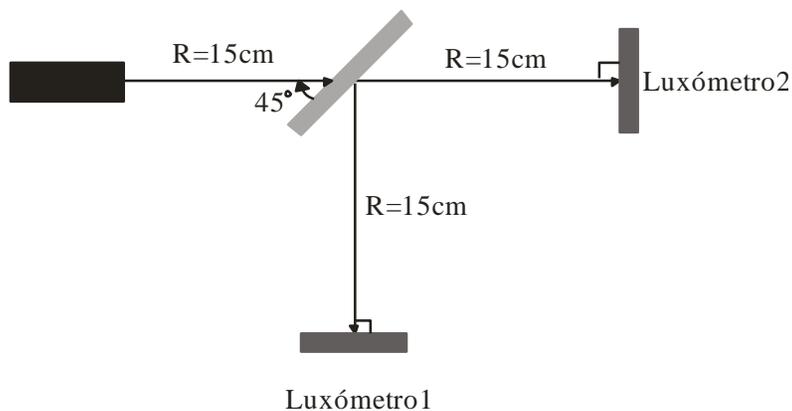


Figura 4.4. Ubicación del divisor y los luxómetros para la caracterización del divisor de haz.

Para hallar la relación entre la iluminancia E y la intensidad I en el caso de la caracterización del divisor de haz y del posterior estudio de las propiedades ópticas del

plasma se tuvo en cuenta que el haz incide de manera perpendicular sobre la superficie del luxómetro con el cual se realizó la medida. Teniendo en cuenta lo anterior y conociendo la distancia de la fuente al punto de ubicación del luxómetro que es la misma para todos los luxómetros utilizados y tiene un valor de $R=15,0\text{cm}$, la relación entre iluminancia e intensidad está dada por la siguiente expresión [9]

$$E = \frac{I}{R^2} \quad (28)$$

A partir de la figura 4.2 se puede realizar las siguientes observaciones, el haz que incide sobre el divisor ubicado a 45° con respecto a la dirección del haz tiene una intensidad I_i , una parte de este haz, con intensidad I_{tl} , continúa en dirección paralela a la dirección de incidencia, es decir se transmite. Un segundo haz con intensidad I_{rdl} , menor que la intensidad del haz incidente sobre el divisor, se desvía en dirección perpendicular, es decir se refleja. Una parte muy poco significativa del haz incidente, con intensidad I_{ad} , es absorbida por el divisor. En las tablas 4.1 y 4.2 pueden observarse los datos obtenidos de iluminancia de los haces incidente, reflejado y transmitido medidos con luxómetros cuyas superficies se ubicaron con un ángulo de 90° respecto a la trayectoria seguida por el haz correspondiente para cada lado del divisor con su respectivo tratamiento estadístico.

Finalmente puede observarse el porcentaje de iluminancia respecto al haz incidente. Teniendo en cuenta la ecuación 28, la iluminancia es proporcional a la intensidad y gráficamente tienen los mismos comportamientos.

Tabla 4.1. Registro de iluminancia del haz proveniente de un láser de 650nm incidente sobre el lado uno del divisor de haz. Caracterización de un divisor de haz

n	Iluminancia del haz incidente, $E_i = I_i/R^2(\text{lux})$	Iluminancia del haz transmitido, $E_{t1} = I_{t1}/R^2(\text{lux})$	Iluminancia del haz reflejado, $E_{rd1} = I_{rd1}/R^2(\text{lux})$	$E_{t1} + E_{rd1} = (I_{t1}+I_{rd1})/R^2$ (lux)
1	995	516	461	967
2	965	541	414	955
3	981	522	440	962
4	983	506	466	972
5	1003	527	461	988
6	982	517	445	962
7	986	533	453	986
8	994	531	447	978
9	987	529	448	977
10	981	526	441	967
m¹	986	525	448	972
s²	10	10	15	11

A partir de los datos de la tabla 4.1 se observa que la primera cara del divisor de haz tiene una transmitancia del 53% y una reflectancia del 45%.

¹ m, representa la iluminancia promedio para cada columna en las tablas de la 11 a la 15.

² s, representa la desviación estándar de la muestra para cada columna en las tablas de la 11 a la 15.

Tabla 4.2. Registro de intensidades del haz proveniente de un láser de 650nm incidente sobre el lado dos del divisor de haz.

n	Iluminancia del haz incidente, $E_i = I_i/R^2(\text{lux})$	Iluminancia del haz transmitido, $E_{t1} = I_{t1}/R^2(\text{lux})$	Iluminancia del haz reflejado, $E_{rd1} = I_{rd1}/R^2(\text{lux})$	$E_{t1} + E_{rd1} = (I_{t1}+I_{rd1})/R^2$ (lux)
1	967	518	446	964
2	972	520	445	965
3	970	521	439	960
4	975	526	437	963
5	964	516	428	944
6	966	517	429	946
7	963	541	420	961
8	970	534	429	963
9	967	517	436	953
10	976	539	437	976
m	969	525	435	960
s	4	10	8	10

A partir de los datos de la tabla 4.2 se observa que la segunda cara del divisor de haz tiene una transmitancia del 54% y una reflectancia del 45%.

El comportamiento del haz al atravesar el divisor se aprecia en las figuras 4.5 y 4.6.

Las pequeñas variaciones que se presentan en los valores del nivel de luminosidad se atribuyen principalmente al ruido ocasionado por la iluminación del laboratorio donde se realizaron las pruebas.

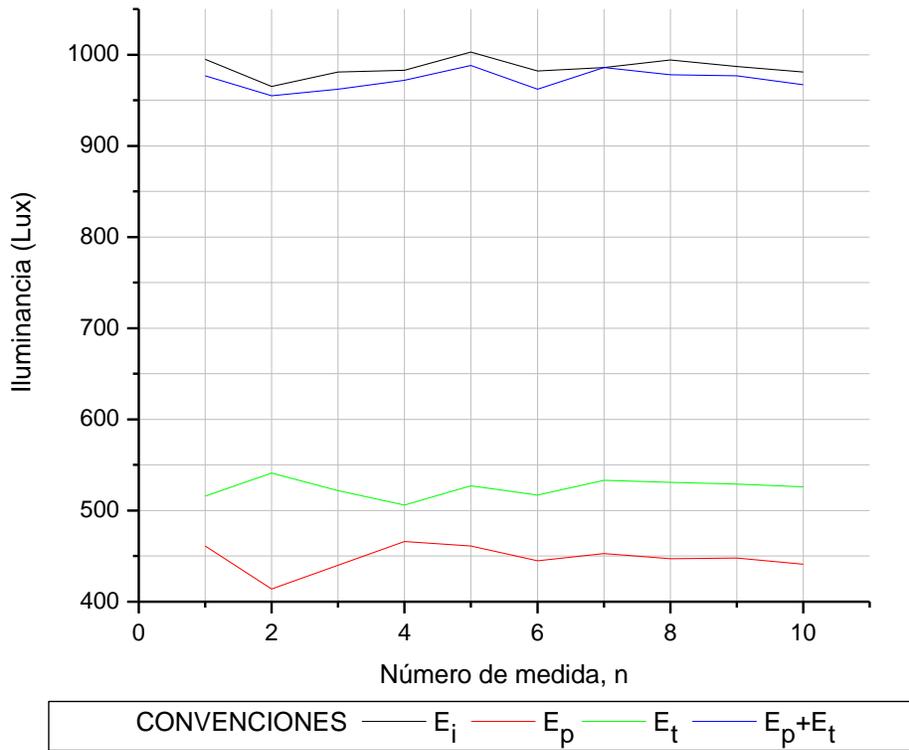


Figura 4.5. Caracterización del divisor empleado para la determinación de los porcentajes de esparcimiento, transmisión, reflexión y absorción del plasma humano. Lado uno

En las convenciones de las figuras 4.5 y 4.6, E_i representa la iluminancia del haz incidente sobre el divisor proporcional a $\frac{I_i}{R^2}$, E_p es la iluminancia del haz reflejado por el divisor en un ángulo de 135° respecto a la dirección de incidencia en sentido antihorario y es proporcional a $\frac{I_p}{R^2}$, E_t es la iluminancia del haz transmitido por el divisor proporcional a $\frac{I_t}{R^2}$ e E_p+E_t es la suma de las iluminancias reflejada y transmitida que debe aproximarse a la iluminancia del haz incidente y que es proporcional a $\frac{I_p + I_t}{R^2}$.

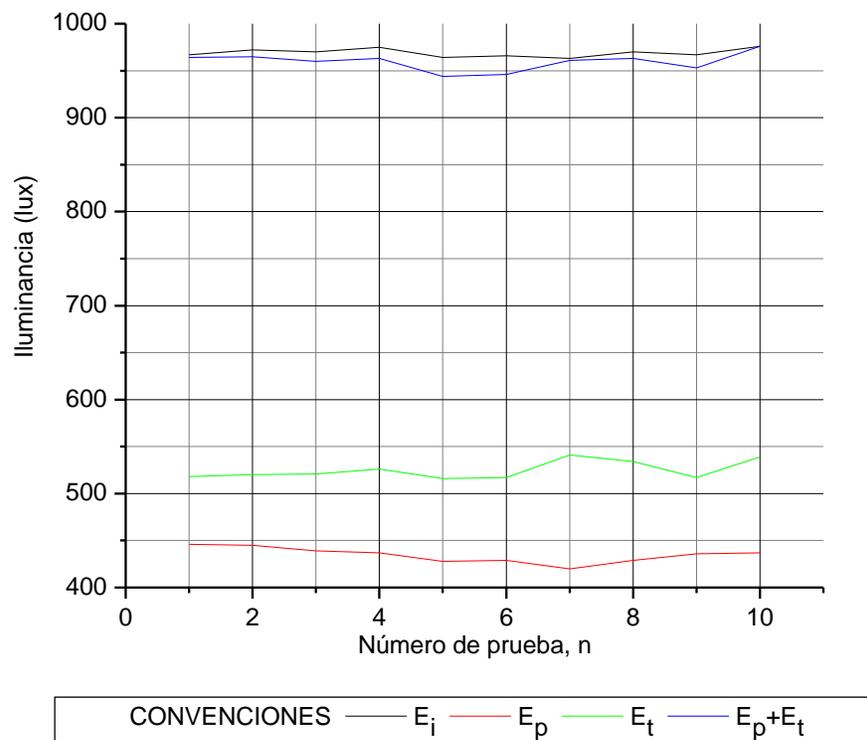


Figura 4.6. Caracterización del divisor empleado para la determinación de los porcentajes de esparcimiento, transmisión, reflexión y absorción del plasma humano. Lado dos

Por otra parte, para determinar el coeficiente de absorción del divisor de haz se calcularon las intensidades relativas a partir de las iluminancias de los haces transmitido y reflejado y la iluminancia del haz incidente, ya que la razón entre la iluminancia E_i que corresponde a la medida i y la iluminancia máxima $E_{m\acute{a}x}$ obtenida para el grupo de medidas realizadas, es equivalente a la razón entre la intensidad I_i correspondiente a una medida y la intensidad máxima $I_{m\acute{a}x}$ entre todas las medidas realizadas, lo anterior puede expresarse, utilizando la ecuación 28, como

$$\frac{E_i}{E_{m\acute{a}x}} = \frac{I_i}{I_{m\acute{a}x}} \quad (29)$$

donde el subíndice i se refiere al número de medida y el subíndice $máx$ indica la medida de mayor valor entre el grupo de medidas realizadas.

En las tablas 4.3 y 4.4 puede notarse que el porcentaje de absorción es muy pequeño en comparación con los porcentajes de reflexión y transmisión que aparecen en las tablas 4.1 y 4.12.

Tabla 4.3. Cálculo del porcentaje de absorción de la cara uno del divisor de haz.

n	Iluminancia del haz incidente, $E_i = I_i/R^2$ (lux)	$E_{t1} + E_{rd1} =$ $(I_{t1} + I_{rd1})/R^2$ (lux)	Iluminancia del haz absorbido por el divisor E_a (lux)
1	995	967	28
2	965	955	10
3	981	962	19
4	983	972	11
5	1003	988	15
6	982	962	20
7	986	986	0
8	994	978	16
9	987	977	10
10	981	967	14
m	986	972	14
s	10	11	7

A partir de la tabla 4.3 se puede observar que el valor correspondiente a la absorbancia es del 1%. Este porcentaje es muy pequeño, como era de esperarse, ya que los divisores son dispositivos ópticos elaborados de forma tal que presenten la mínima absorción posible.

Tabla 4.4. Cálculo del porcentaje de absorción de la cara dos del divisor de haz

n	Iluminancia del haz incidente, $E_i = I_i/R^2$ (lux)	$E_{t1} + E_{rd1} =$ $(I_{t1} + I_{rd1})/R^2$ (lux)	Iluminancia del haz absorbido por el divisor E_a (lux)
1	967	964	3
2	972	965	7
3	970	960	10
4	975	963	12
5	964	944	20
6	966	946	20
7	963	961	2
8	970	963	7
9	967	953	14
10	976	976	0
m	969	960	9
s	4	10	7

A partir de la tabla 4.14 se puede observar que el valor correspondiente a la absorbancia es del 1%.

Los porcentajes de absorción, transmisión y reflexión del divisor son muy parecidos para las dos caras y en general como el porcentaje de absorción por ambos lados es de 1% este fenómeno se despreciará en los cálculos para la determinación del porcentaje de absorción del plasma en las pruebas de TPT y TT, como se explica a continuación.

4.1.1.2 Medidas de intensidades para el cálculo del porcentaje de absorción del plasma humano. Como se explicó anteriormente para la figura 4.2, el haz proveniente del láser incide sobre el divisor y una parte de dicho haz se refleja, otra se trasmite y otra es

absorbida, siendo esta última poco significativa y por tanto no se tiene en cuenta. Según el montaje mostrado en la figura 4.1, la parte transmitida con intensidad relativa I_{t1} se hace incidir sobre la muestra de plasma estudiada. De igual manera el haz que atraviesa la muestra sufre modificaciones en la intensidad relativa, lo que provoca un haz esparcido con intensidad relativa I_e , un haz transmitido por la muestra con intensidad relativa I_{t2} , un haz reflejado por la muestra con intensidad relativa I_{rm} , y un haz absorbido por la muestra con intensidad relativa I_{am} .

Como se explicó en la sección 4.2.1 la iluminancia relativa es equivalente a la intensidad relativa por tanto para determinar el porcentaje de absorción del plasma se trabajó con intensidad relativa respecto a las intensidades medidas en una misma prueba. Debe tenerse en cuenta que I acompañada de cualquier subíndice representa la intensidad relativa y no absoluta.

Por el principio de conservación, cualquier forma de energía que entra a un sistema debe ser cuantitativamente equivalente a la energía que sale. Por tanto la energía que entra en la muestra de plasma en forma de radiación electromagnética debe ser igual a la cantidad de energía que abandona la muestra después de la interacción, que también corresponde a radiación electromagnética dadas las condiciones del sistema. Esto es,

$$I_{t1} = I_i + I_{t2} + I_m + I_{am} \quad (30)$$

Los valores de I_{t1} , I_e e I_{t2} que aparecen en la ecuación 30 se obtuvieron experimentalmente.

Para encontrar el valor de I_{rm} , se utilizaron los datos de iluminancia registrados por medio del luxómetro 3 (figura 4.2) y se obtuvo la intensidad relativa del haz reflejado por la muestra de plasma y luego reflejada por el divisor. Es decir,

$$I_{rd2} = I_{rm} (P_{ir2}) \quad (31)$$

donde P_{ir2} es el porcentaje de intensidad reflejada por la cara dos del divisor de haz especificado en la tabla 4.1.

La iluminancia E_{rd2} utilizada para establecer la intensidad relativa del haz reflejado por la muestra I_{rd2} , se midió por medio del luxómetro 2 (figura 4.1) y registró un valor constante muy pequeño de 3Lux, por lo que no se tuvo en cuenta.

Si se despeja I_{rm} de la relación (33) ésta también tomará un valor constante y muy pequeño, por lo que se deduce que la intensidad reflejada por la muestra es despreciable.

A partir de la figura 4.2 también se deducen las siguientes relaciones entre las variaciones de intensidad que sufre el haz láser en la determinación de las propiedades ópticas del plasma

$$I_{t1} = I_i (P_{t1}) \quad (32)$$

donde P_{t1} es el porcentaje de la iluminancia del haz transmitido por la cara uno del divisor de haz especificado en la tabla 4.2.

$$I_{rm} = I_{t1} (P_{rm}) \quad (33)$$

donde P_{rm} es la intensidad relativa del haz reflejado por la muestra.

Con las relaciones (32), (33) y (34) se obtiene la intensidad absorbida por la muestra

$$I_{am} = I_{t1}[1-(P_{rm})]-I_e-I_{t2} \quad (34)$$

Experimentalmente, haciendo barridos alrededor de la muestra con un luxómetro durante la realización de las pruebas, se obtuvo que I_e toma valores muy pequeños de modo que la

pérdida de intensidad debida al esparcimiento es despreciable. P_{rm} es el porcentaje de reflexión de la muestra y ya se mencionó que tiene valor poco significativo, I_{t1} está especificada en la tabla 4.2. Entonces se deduce que el efecto de absorción de la muestra de plasma es el más importante y el que origina las variaciones en la intensidad de la radiación sobre la muestra durante la medición de los tiempos de coagulación, específicamente TPT y TT. Pero se puede deducir, por las similitudes entre las pruebas, que el plasma afecta la intensidad del láser de la misma manera en las pruebas de TP. El valor de la intensidad relativa absorbida por el plasma está dado por

$$I_{am} = I_{t1} - I_{t2} \quad (35)$$

En la tabla 4.4 se encuentran los porcentajes de intensidad relativa del haz láser incidente y transmitido en el divisor de haz durante la realización de las pruebas de TPT y TT.

Tabla 4.5. Medidas de la intensidad del haz láser para la caracterización del plasma sanguíneo con su respectivo tratamiento estadístico.

Número de medida	Intensidad relativa incidente, P_i	Intensidad relativa transmitida, P_{t1}
1	0,93	0,92
2	0,96	0,97
3	1,00	0,98
4	0,97	0,98
5	0,99	0,98
6	0,98	0,99
7	0,99	0,98
8	0,96	0,97
9	0,99	0,99
10	1,00	0,99
11	0,99	0,98
12	0,95	0,97
13	0,98	0,99
14	0,98	0,99
15	0,98	0,98
16	0,99	0,99
17	0,99	0,99
18	0,99	0,98
19	0,99	1,00
20	1,00	0,99
m	0.98	0.98
s	0.02	0.01

Gráficamente se puede apreciar el comportamiento de la intensidad del haz láser para las pruebas de TPT y TT en la figura 4.7.

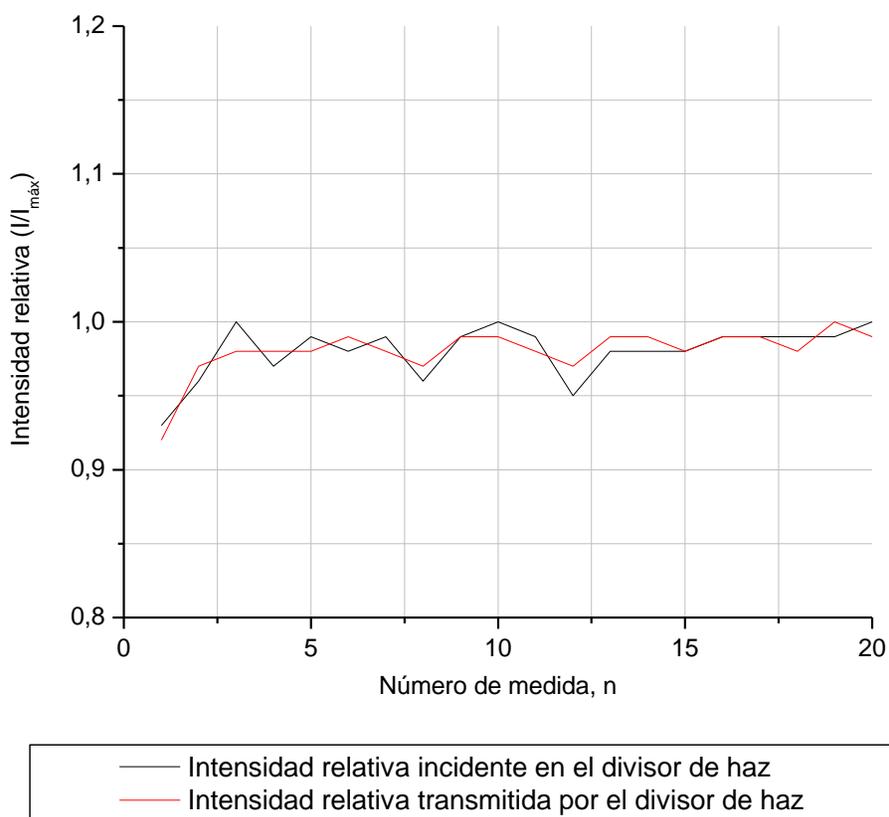


Figura 4.7. Medida de las intensidades relativas incidente y transmitida por el divisor de haz para la determinación del porcentaje de absorbancia del plasma sanguíneo.

En las siguientes tablas se encuentran los datos obtenidos en el laboratorio para las pruebas de TPT y TT y la intensidad relativa del haz láser absorbido por la muestra de plasma, calculada teniendo en cuenta la ecuación 35 y el valor de I_I obtenido de la tabla 5.

- **Pruebas de TT**

Tabla 4.6. Cálculo del porcentaje de absorbancia del plasma humano a partir de la prueba de TT.

Tiempo (s)	Intensidad relativa transmitida por la muestra, I_{t2}	Intensidad relativa absorbida por la muestra, I_{am}
6	0,80	0,88
8	0,75	0,89
10	0,74	0,89
12	0,54	0,92
14	0,45	0,93
16	0,35	0,95
18	0,24	0,96
20	0,18	0,97
22	0,12	0,98

En la tabla 4.5 aparecen los valores de intensidad relativa registrados a partir de 6s; ya que las pruebas se realizaron de manera independiente al coagulómetro, los datos se tomaron de manera manual y el tiempo se contabilizó por medio de un cronómetro. Todos estos aspectos aumentaron la dificultad en las pruebas y como los tiempos eran tan cortos resultaba muy fácil saltarse algún dato.

A continuación aparece el comportamiento del porcentaje de absorción durante el proceso de la coagulación en la figura 4.8. En esta gráfica se registraron los datos correspondientes a las pruebas de TT utilizando un divisor de haz. La curva se obtuvo de acuerdo al montaje experimental de la figura 4.1 implementado fuera del coagulómetro. En la gráfica se observa la tendencia del porcentaje de absorción a aumentar mientras se forma el coágulo, es un comportamiento bien definido a pesar de unas pequeñas desviaciones debidas a las

condiciones de iluminación a las que se encuentra sometido el laboratorio de Hematología y a la dificultad para la ubicación de las muestras.

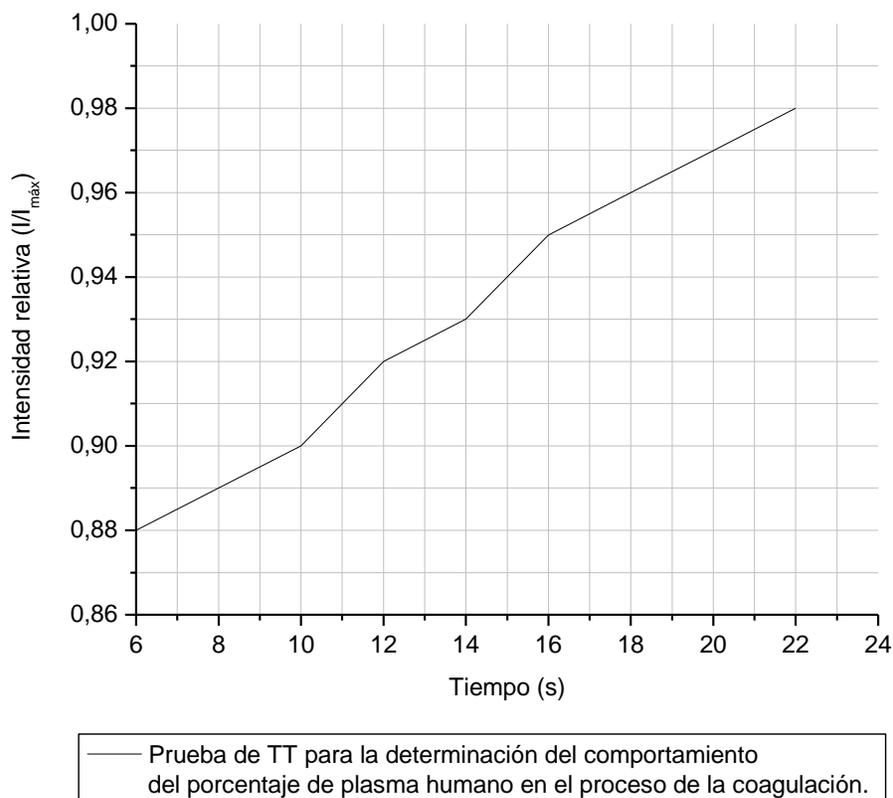


Figura 4.8. Pruebas de TT realizadas para la determinación del porcentaje de absorción del plasma humano bajo radiación electromagnética de longitud de onda de 650nm.

- **Pruebas de TPT**

Tabla 4.7. Cálculo del porcentaje de absorbancia del plasma humano a partir de la prueba de TPT.

Tiempo (s)	Intensidad relativa transmitida por la muestra, I_t (Lux)	Intensidad relativa absorbida por la muestra, I_{am}
2	0,49	0,93
4	0,42	0,94
6	0,44	0,94
8	0,42	0,94
10	0,38	0,95
12	0,32	0,96
14	0,33	0,95
16	0,31	0,96
18	0,29	0,96
20	0,26	0,96
22	0,22	0,97
24	0,19	0,97
26	0,18	0,97
28	0,18	0,97
30	0,14	0,98
32	0,12	0,98
34	0,09	0,99
36	0,08	0,99
38	0,06	0,99
40	0,04	0,99

En la tabla 4.6 se observa el aumento del porcentaje de absorción del plasma sanguíneo mientras se forma el coágulo en las pruebas de TPT. Esto es suficiente para establecer que el método óptico propuesto para trabajar con el coagulómetro SM47 es adecuado, ya que las variaciones incontroladas esta relacionada más con ruidos y fallas externas que con el sistema de análisis óptico. Las pruebas de TPT presentan mayor dificultad a la hora de registrar los datos pues su duración es mayor que para las pruebas de TT y TP.

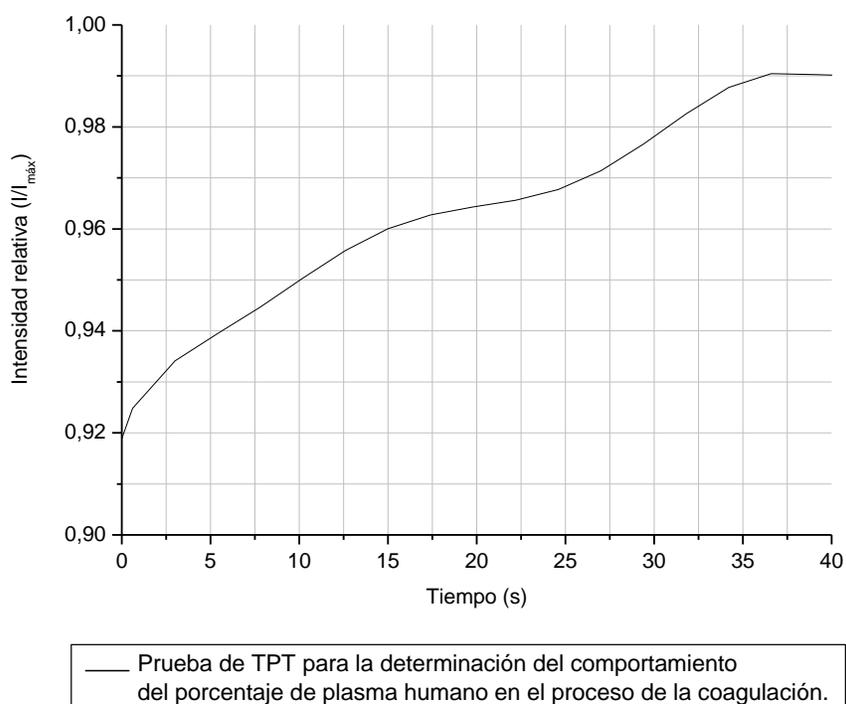


Figura 4.9. Prueba de TPT realizadas para la determinación del comportamiento del porcentaje de absorción del plasma humano bajo radiación electromagnética de longitud de onda de 650nm.

Se realizaron cinco pruebas de TT y seis pruebas de TPT para establecer el comportamiento del plasma humano mientras ocurre el proceso de la coagulación y todas las curvas correspondientes presentan la misma tendencia, es decir que el método óptico implementado tiene una buena reproducibilidad a la hora de trabajar con muestras reales a pesar de que la realización de las pruebas tuvo un alto grado de dificultad debido a la difícil

manipulación de las muestras en el momento de agregar el reactivo. Debido a estas dificultades se estableció un método para agregar los reactivos sin provocar pequeñas turbulencias que ocasionaran vórtices en las gráficas.

Para establecer el método de adición de reactivos en las pruebas de TP, TPT y TT, se simuló el proceso utilizando agua y tintura de yodo como plasma y reactivo respectivamente; el reactivo se adicionó por medio de pipetas con diferentes direcciones respecto al tubo porta-muestras y con diferentes velocidades, por goteo, a chorro. La mezcla para estas pruebas estuvo constituida por una composición de 20mL de agua y 2,5mL de tintura de yodo. A esta mezcla se le fue agregando paulatinamente más tintura de yodo puro. Después de varios ensayos se obtuvieron mejores resultados colocando la punta de la pipeta contra la pared del tubo porta-muestras y liberando el reactivo lentamente (figura 4.10).

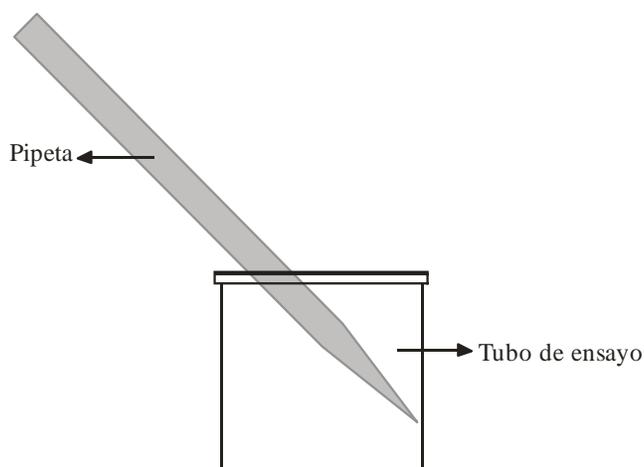


Figura 4.10. Posición de la pipeta para la adición de reactivos para la realización de las pruebas de TP, TPT y TT.

Además de la adición de reactivos se sugirió la duplicación de las cantidades de plasma y reactivo para la realización de las pruebas ya que el nivel alcanzado por el primer

componente en la medida del tiempo de coagulación que puede ser el plasma o el reactivo no alcanzaba el punto de incidencia del láser, lo que sumaba un error extra en los resultados, pues al adicionar el reactivo o el plasma según la prueba, el menisco formado en la superficie del plasma empezaba a oscilar y hacía variar la intensidad registrada por el fotodiodo.

4.2 PRUEBAS DE TP, TPT Y TT REALIZADAS CON EL COAGULÓMETRO SM47

En esta sección se presentan los resultados con sus respectivos análisis correspondientes a las pruebas clínicas de TP, TPT y TT realizadas en el laboratorio de Hematología utilizando el coagulómetro SM47.

Para realizar las pruebas de TT, TPT y TT inicialmente se incubaron el plasma y el reactivo en el coagulómetro, luego se agrego manualmente el reactivo a la muestra y el coagulómetro registró las variaciones en la intensidad mientras que el tiempo se tomó por medio de un cronómetro. El objetivo de estas pruebas era establecer el comportamiento del haz láser transmitido por la muestra durante el proceso de la coagulación y determinar en qué porcentaje se reduce la intensidad inicial, primero por la adición de reactivo y segundo por la formación del coágulo. Estos datos fueron utilizados para la implementación del temporizador del coagulómetro SM47.

No en todas las pruebas se pudo hacer un registro de datos desde 0s, que era el tiempo correspondiente a la intensidad máxima, es decir, cuando no se había adicionado reactivo al plasma debido a que la toma de datos se dificultó ya que las variaciones en la intensidad eran tan rápidas que se apreciaban varios datos al mismo tiempo, además el tiempo de registro se limitaba a una diferencia de unos pocos segundos entre datos y el registro del tiempo dependía de la persona encargada de manipular el cronometro. Esto se suma al ruido debido a que alrededor del equipo existen varios agentes como los creados por las

condiciones de iluminación a las que se encuentra el laboratorio de Hematología y las conexiones eléctricas.

El tipo de aluminio del cual está fabricado el equipo es otro problema que afecta considerablemente las medidas, ya que se trata de un material poroso que a la hora de perforar los orificios para los tubos hizo que la mayoría quedaran con dimensiones diferentes y como consecuencia en el momento en el que el haz láser iluminaba al tubo con la muestra se observó que para algunos orificios el láser incidía más arriba para otros más abajo o incluso hacia un lado.

A continuación se presentan los resultados de las pruebas de TP, TPT y TT para determinar tiempos de coagulación.

- **Pruebas de TP**

En las gráfica los datos en el eje y corresponden a intensidades relativas calculadas a partir de la ecuación 36

$$I_{relativa} = \frac{I_i}{I_{máxima}} \quad (36)$$

donde $I_{relativo}$ es la intensidad que se tabula para realizar la gráfica, $I_{máximo}$ es la intensidad que toma el mayor valor entre los datos de la misma prueba e I_i es la intensidad a la cual se le calcula la intensidad relativa. Las intensidades graficadas son relativas respecto a los datos registrados por el amplificador del fotodiodo, y los valores del eje x son los tiempos en segundos en los que se toma la intensidad sensada por el fotodiodo.

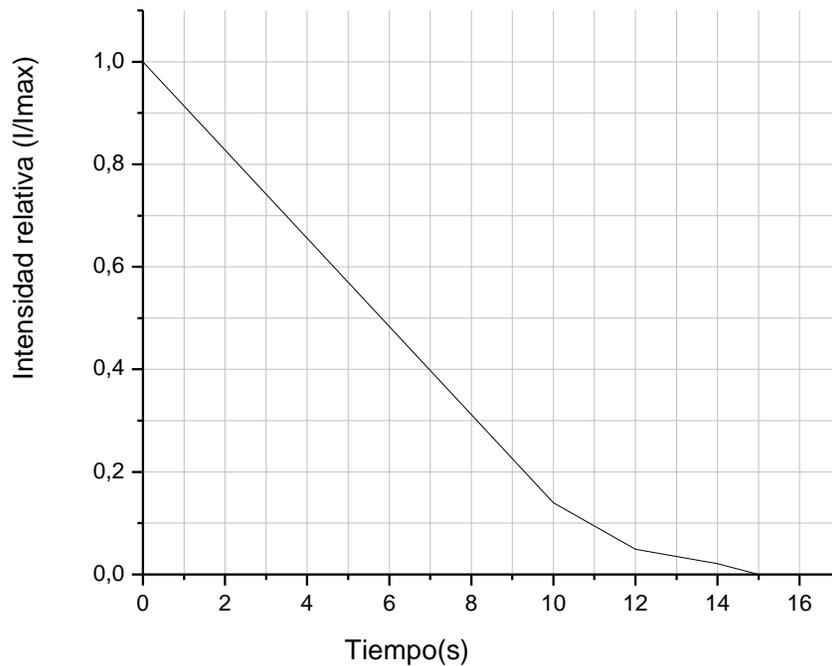


Figura 4.11. Prueba No1 de TP para establecer el rango de normalidad del coagulómetro SM47.

En la figura 4.10, la curva presenta un comportamiento lineal decreciente y en 10 segundos se observa un cambio en la pendiente de la curva que indica la formación del coágulo. El tiempo establecido a partir de esta prueba es de 10s. La intensidad relativa en esta prueba desciende en 10s hasta alcanzar el 14% de su valor inicial y en 15s alcanza el 0%. El plasma de este paciente es normal según las pruebas manuales del laboratorio de Hematología

En la figura 4.11 se observa un comportamiento similar al de la figura 4.10, también permite determinar un TP de 10s, pero en este tiempo la intensidad relativa toma un valor de 0% de su valor inicial, luego el valor de la intensidad relativa toma valores crecientes hasta que en 14s se estabiliza en un valor del 4% de la intensidad relativa inicial.

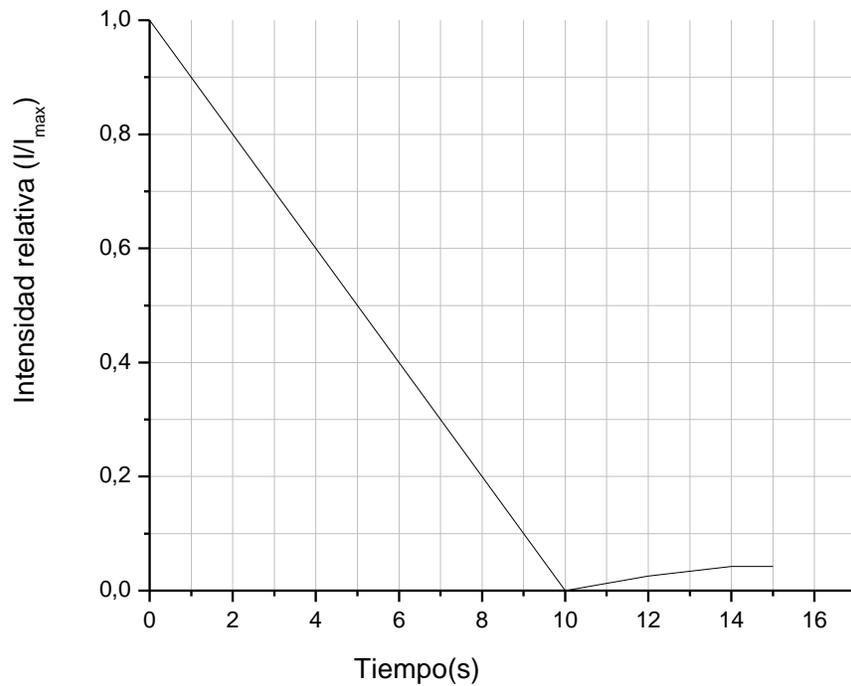


Figura 4.12. Prueba No2 de TP para establecer el rango normal del coagulómetro SM47.

En la figura 4.12 se puede determinar un TP de 10s para un valor de intensidad relativa de 10% del valor inicial. Después de esta variación en la pendiente que en este caso también está indicando la formación del coágulo, la intensidad relativa sigue disminuyendo hasta que en 13,8s alcanza el 0% de la intensidad inicial.

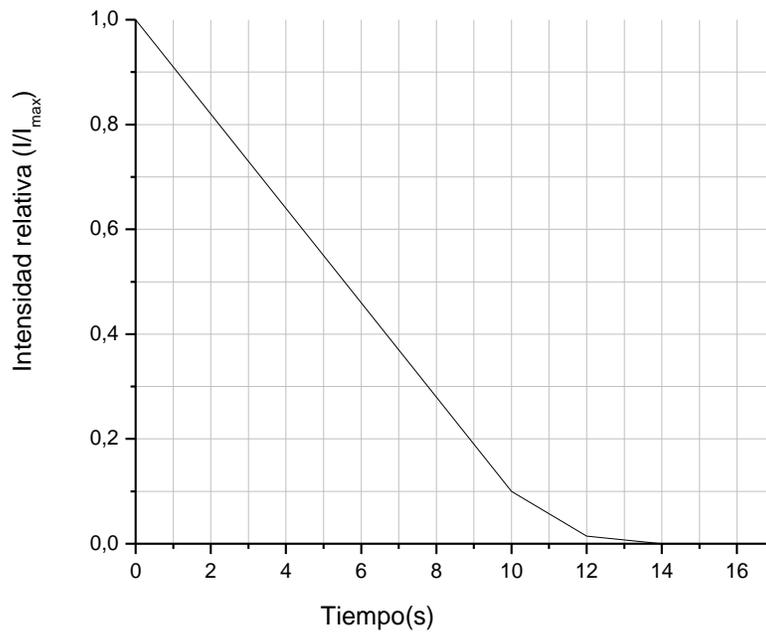


Figura 4.13. Prueba No3 de TP para establecer el rango normal del coagulómetro SM47.

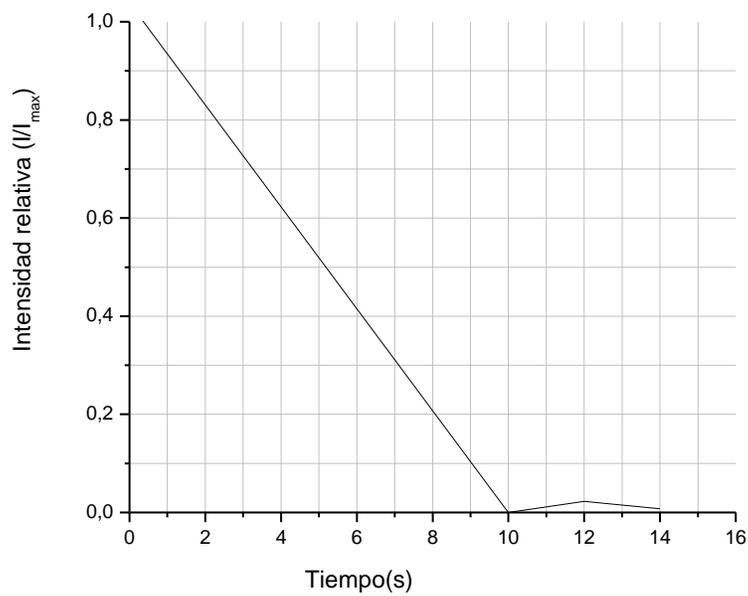


Figura 4.14. Prueba No4 de TP para establecer el rango normal del coagulómetro SM47.

Las figuras de TP obtenidas con el sistema óptico del coagulómetro SM47 indican el mismo valor de TP de 10s, pero con diferentes disminuciones de intensidad para la mayoría de los casos, solo las pruebas dos y cuatro presentaron una disminución total de la intensidad máxima. Para la prueba uno la disminución fue del 86% y para la prueba dos la disminución fue del 90%. Las pruebas dos, tres y cuatro también pertenecen a pacientes normales.

Para establecer el rango de TP normal del coagulómetro SM47 se tiene en cuenta que para la primera prueba se obtuvo una disminución de 100% de la intensidad a los 15s, para la segunda prueba a los 10s, para la tercera prueba a los 14s y para la cuarta prueba a los 10s, a partir de estos resultados se deduce que el mayor tiempo que tarda la intensidad en disminuir hasta 0 por la formación del coágulo es de 15s, por otro lado en las pruebas no se obtiene un tiempo inferior a los 10s, por tanto el rango de normalidad del coagulómetro SM47 está entre 10s y 15s.

- **Pruebas de TPT**

La gráfica 4.15 es el resultado de una prueba realizada con plasma de un paciente con TPT normal. Al final de la prueba la intensidad relativa alcanzó un 44% de su valor inicial. La toma de datos se realizó hasta 100s para observar el comportamiento del plasma después de la formación del coágulo.

Hasta 25s la curva de la figura 4.15 presenta un comportamiento lineal y después sufre variaciones pero conserva la tendencia a decrecer, llegando a 30% de la intensidad inicial en un tiempo de 100s.

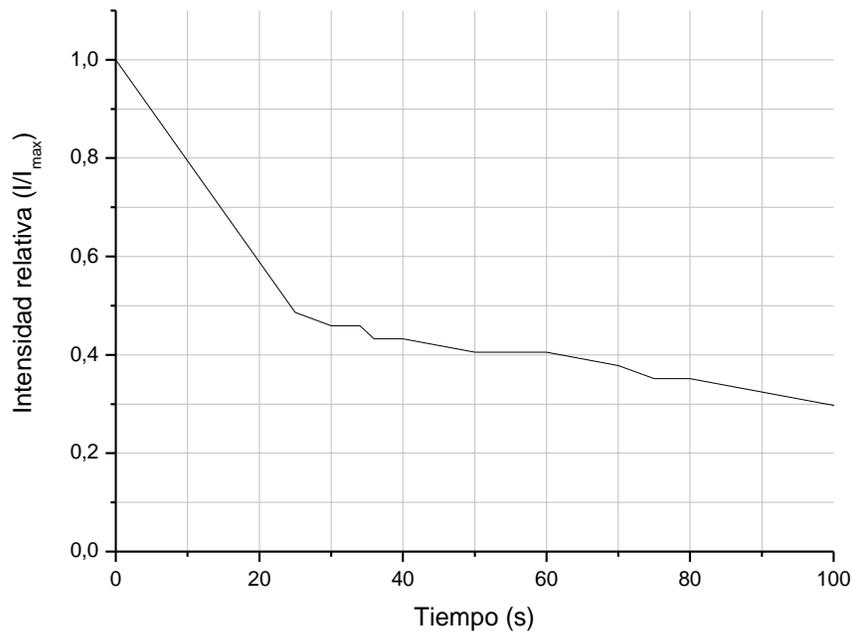


Figura 4.15. Prueba No1 de TPT para la determinación del rango normal del coagulómetro SM47

Las dos siguientes pruebas (figuras 4.16 y 4.17).presentan un comportamiento lineal que indican la formación del coagulo a los 25s tomando valores de intensidad relativa de 0% y 5% respectivamente. Estas pruebas también se realizaron con pacientes normales.

La prueba dos correspondiente a la figura 4.16 fue la que presentó mayor reducción en la intensidad respecto a las otras dos pruebas, alcanzando una disminución del 99% de su valor inicial, mientras que la primera alcanzó el 44% y la tercera el 5%.

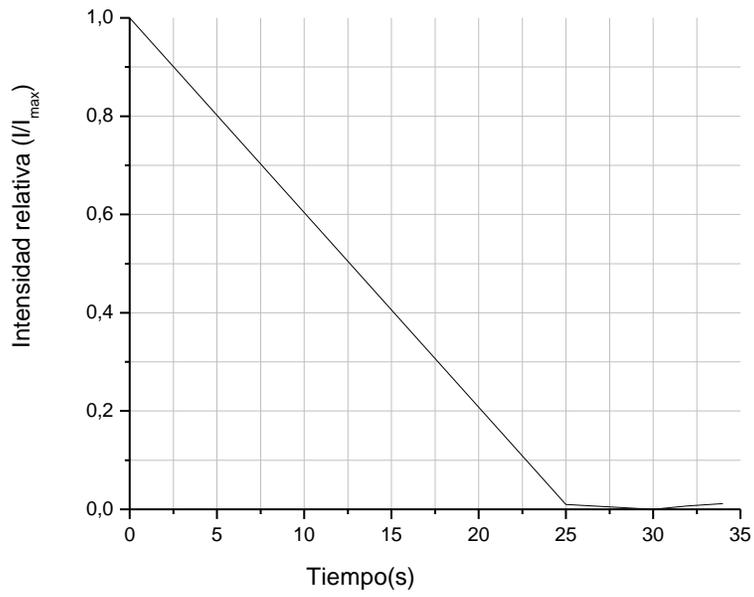


Figura 4.16. Prueba No2 de TPT para la determinación del rango normal del coagulómetro SM47

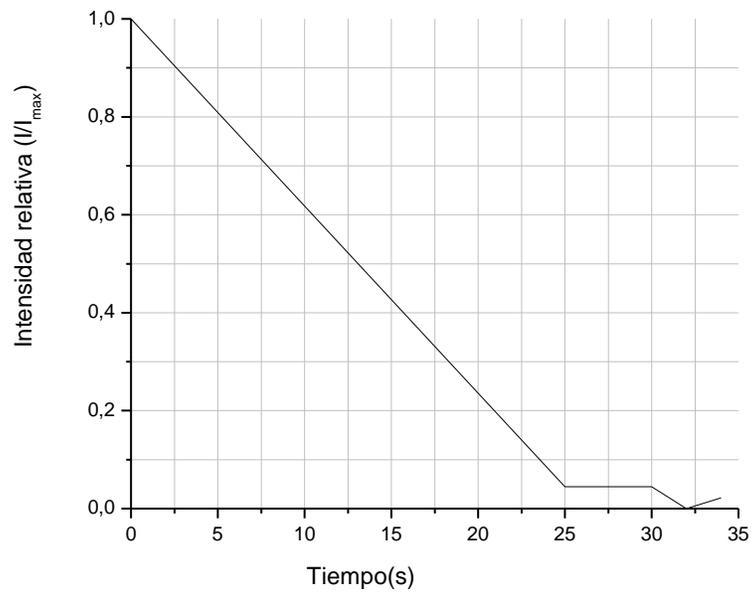


Figura 4.17. Prueba No3 de TPT para la determinación del rango normal del coagulómetro SM47

El rango de normalidad para las pruebas de TPT realizadas con el coagulómetro, determinadas de la misma manera que para las pruebas de TP, teniendo en cuenta que no hay ningún TPT inferior a 25s y que el máximo tiempo en llegar al 0% del valor de la intensidad inicial lo registró la prueba tres a los 32s, está entre 25s y 32s. No se tuvo en cuenta la primera prueba para la determinación del límite superior del rango de normalidad, ya que en esta prueba no se obtuvo una disminución de intensidad del 100%.

- **Pruebas de TT**

Las pruebas de TT fueron realizadas con plasmas pertenecientes a pacientes normales, las pruebas correspondientes a las figuras 4.18 y 4.19 fueron extraídas de un mismo paciente, teóricamente se espera una desviación máxima del 10%.

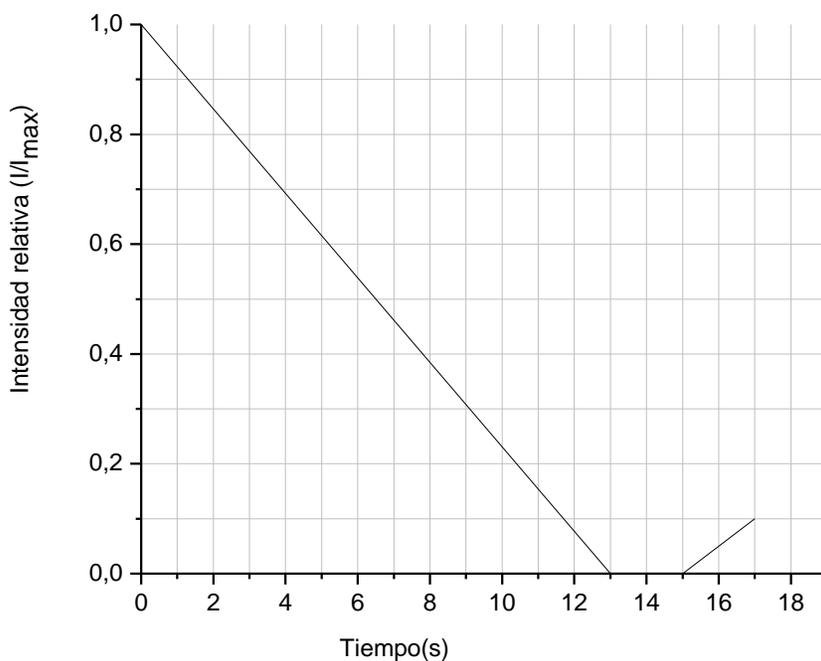


Figura 4.18. Prueba No1 de TT para la determinación del rango normal del coagulómetro SM47

A partir de la figura 4.18 se obtuvo un TT de 13s, para este tiempo se presenta una disminución del 100% de la intensidad.

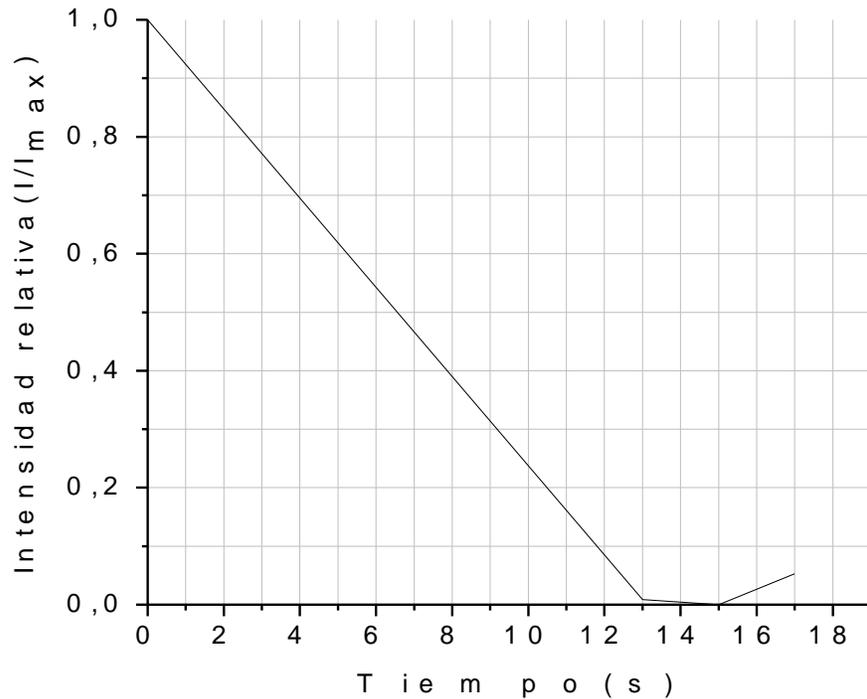


Figura 4.19. Prueba No2 de TT para la determinación del rango normal del coagulómetro SM47

El tiempo correspondiente a la prueba dos (figura 4.19) es de 13s, el cual coincide con el valor de tiempo de la gráfica 4.18, sin embargo en el primer caso la intensidad se ve disminuida en un 99% con una diferencia del 1% con respecto a la primera prueba.

Las figuras 4.18 y 4.19 después de los 13s se estabilizan en 0 y a los 15s la intensidad empieza a aumentar hasta alcanzar el 5% de la intensidad inicial a los 17s. Para explicar esta clase de comportamiento se requiere de un estudio especial del plasma para determinar sus propiedades ópticas.

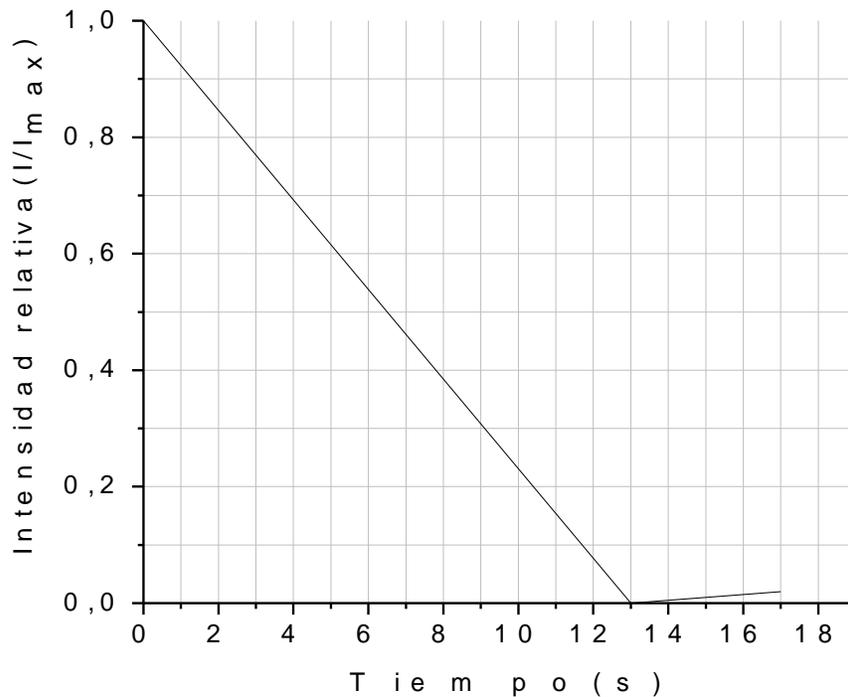


Figura 4.20.. Prueba No3 de TT para la determinación del rango normal del coagulómetro SM47

La prueba tres (figura 4.20) presenta un TT de 13s, corresponde a un paciente diferente al de las pruebas uno y dos de TT. A diferencia de estas inmediatamente después de los 13s la curva presenta un comportamiento creciente hasta alcanzar el 2% del valor de la intensidad inicial en 17s.

A partir de las figuras 4.18, 4.19 y 4.20 se establece el límite inferior del rango normal para las pruebas de TT en 13s. Todas las gráficas llegaron a una intensidad del 0% de la intensidad inicial a los 13s excepto la prueba dos (figura 4.19) que alcanzó este valor a los 15s, siguiendo el mismo método para establecer el rango de normalidad de las pruebas de TP y TPT se concluye que el rango de normalidad para las pruebas de TT está entre 13s y 15s.

A continuación se presentan los resultados de una prueba de TT realizada siguiendo un método implementado por los doctores del laboratorio de Hematología que consiste en la dilución del reactivo, se espera que los tiempos determinados a partir de este método correspondan al tiempo del rango normal establecido multiplicado por dos.

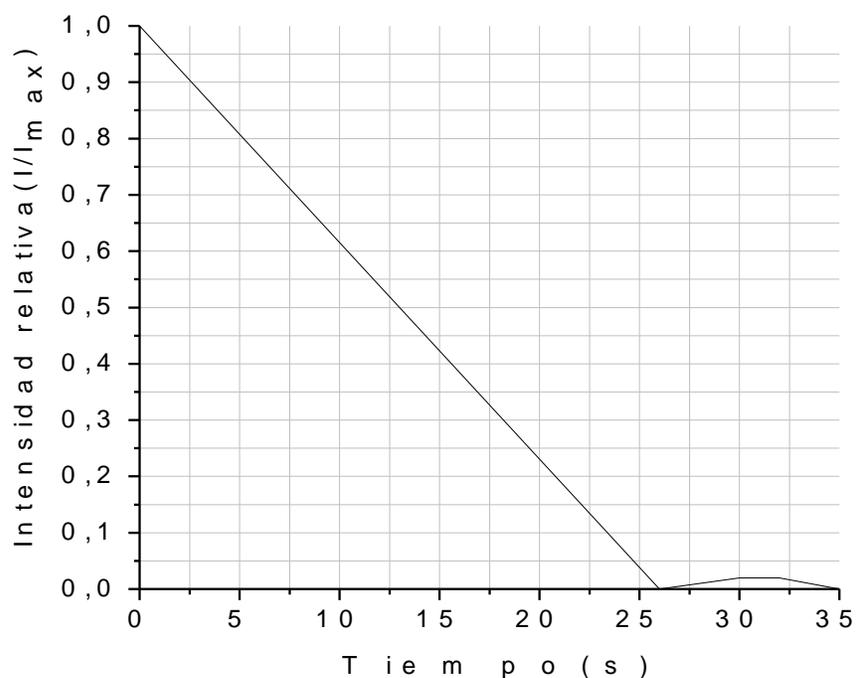


Figura 4.21. Prueba No4 de TT para la determinación del rango normal del coagulómetro SM47

A partir de la figura 4.21 se observa que la intensidad disminuye en un 100% para un tiempo de 26s que corresponde al doble del límite inferior del rango de normalidad para las pruebas de TT. Esta prueba también presenta un incremento en la intensidad después de alcanzar el 0% llegando a un 2% de la intensidad inicial en 30s. Si los tiempos de las pruebas de TT diluidas corresponden al doble de los tiempos de las pruebas de TT normales, es decir, con reactivos puros, entonces el rango de normalidad para las pruebas diluidas de TT esta entre 26s y 30s.

En la tabla 4.8 se encuentran los rangos de normalidad para las pruebas de TP, TPT, TT y TT diluida realizadas con el coagulómetro SM47.

Tabla 4.8. Rangos de normalidad para las pruebas de TP, TPT, TT y TT diluida utilizando el coagulómetro SM47

Tipo de prueba	Rango de tiempo (s)
TT	10 – 15
TPT	25 – 32
TT	13 – 15
TT diluida	26 - 30

CAPÍTULO CINCO

5. LIMITACIONES Y SUGERENCIAS DEL COAGULÓMETRO SM47

De acuerdo con las limitaciones del coagulómetro SM47 y con el fin de mejorar su desempeño se recomienda tener en cuenta las siguientes observaciones:

- 1.** La principal limitación en la realización del proyecto fue la falta de recursos económicos, por lo cual no se pudo llevar a cabo un estudio detallado del plasma para establecer sus propiedades ópticas. Este estudio es necesario para determinar a que longitud de onda el plasma presenta un mejor comportamiento respecto a los porcentajes de transmitancia y absorbancia que permitan establecer con claridad los tiempos de coagulación.
- 2.** Para la determinación de los rangos de normalidad del coagulómetro SM47 se realizó un número reducido de pruebas debido a la difícil adquisición de los reactivos por su costo. Además el Laboratorio de Hematología en donde se realizaron las pruebas, debido al volumen de trabajo, solo pudo asignar unas pocas horas a la semana para el desarrollo del proyecto.
- 3.** En el Laboratorio de Hematología se emplean reactivos de diferentes marcas (proveedores) para el mismo tipo de prueba, debido a esto los resultados obtenidos con el coagulómetro presentaron variaciones posiblemente provocadas por diferencia en las propiedades ópticas del plasma al mezclarlo con reactivo diferentes. Por lo tanto se sugiere que el reactivo utilizado para cada tipo de prueba sea siempre de la misma casa o laboratorio..

4. Para la realización de las pruebas de coagulación con el caagulómetro SM47 se utilizaron tubos de diferentes diámetros y grosores y se observó una desviación del comportamiento del sistema de análisis óptico dependiendo de las características que presentaba cada tubo. Por consiguiente, debe determinarse el efecto de las diferencias en la composición o fabricación del tubo sobre los resultados de las pruebas. Dicho efecto puede medirse mediante la realización de un pequeño número de pruebas en cada tipo de tubo, para después comparar sus resultados. Si existen diferencias mantenidas entre los resultados de las pruebas realizadas manual ó automáticamente, debe establecerse un nuevo rango de normalidad. Siempre que sea posible debe evitarse el lavado y uso repetido de los tubos de ensayo.

5. Debido a que hay muchas variables y posibles causas de contaminación al manipular las muestras que pueden alterar los resultados, tales como la falta de uso de materiales de seguridad como guantes y falta de cuidado en la limpieza de los tubos portamuestras y el refrigerador donde se almacenan las mismas, se sugiere que las pruebas se realicen siempre por duplicado. Si el tiempo de coagulación de las dos pruebas difiere en más del 10%, se debe hacer otra prueba.

6. Las muestras de plasma analizadas en las pruebas de tiempos de coagulación son muy sensibles y los factores de la coagulación pueden activarse por motivos diferentes a la adición de los reactivos, relacionados con el tratamiento de las muestras desde su extracción hasta la realización de las pruebas. Por eso se deben controlar las condiciones de almacenamiento y conservación de las muestras.

7. La adición de reactivos sin la aplicación de una técnica adecuada genera turbulencias a la hora de mezclarlos con el plasma interfiriendo en el comportamiento del sistema de análisis óptico. Se recomienda realizar la adición de reactivo de tal manera que el líquido se deslice lentamente por las paredes del tubo evitando la formación de

turbulencias y oscilaciones bruscas que produzcan picos de intensidad e impidan determinar con exactitud el tiempo de formación del coágulo.

8. Al diseño del equipo implementado se le pueden realizar las siguientes modificaciones para optimizar su funcionamiento: al asignar un sistema de análisis óptico a cada muestra se puede eliminar el sistema de rotación y ubicación de las muestras, esto con el fin de minimizar los errores en la alineación del sistema óptico. De esta manera no es necesario que el recipiente porta-muestras tenga forma cilíndrica. Para el control de temperatura se puede eliminar la interfase agua-aluminio construyendo un recipiente metálico macizo, lo que facilita el manejo de la temperatura.

CONCLUSIONES

1. Los rangos de normalidad para las pruebas de TP, TPT y TT al utilizar el coagulómetro SM47, teniendo en cuenta que se trata de un sistema óptico y el tiempo se mide a partir de la disminución de la intensidad hasta un porcentaje mínimo de su valor inicial, están entre 10 y 15s, 25 y 32s, y 13 y 15s, respectivamente. Estos rangos son aceptables al compararlos con los rangos normales para las pruebas de TP, TPT y TT establecidos por el Laboratorio de Hematología, que están entre 10 y 14s para el TP, 25 y 35s para el TPT y para el TT el rango normal está entre 11 y 14s, y los rangos de normalidad establecidos por los fabricantes del coagulómetro ACL1000 [10], que son 15-20s para el TP y 20-40s para el TPT, para el TT no se encuentra el rango de normalidad debido a que es una prueba que este coagulómetro no realiza.
2. A partir de la implementación del sistema de análisis óptico del coagulómetro SM47 se pudo establecer que las propiedades ópticas del plasma, frente a una longitud de onda de 650nm, no son iguales para muestras provenientes de diferentes personas, lo que provocó desviaciones en el comportamiento de la transmitancia durante la formación del coagulo impidiendo hallar un porcentaje común de la disminución de intensidad.
3. Al trabajar con fluidos orgánicos, como el plasma sanguíneo, debe tenerse en cuenta que sus características varían de persona a persona, dependiendo de la edad, el sexo, el estado de ánimo, el estado físico, etc. por lo cual no se pueden generalizar las

propiedades que rigen el comportamiento de la muestra en la realización de las pruebas de tiempos de coagulación

4. La manipulación de las muestras es muy importante debido a que éstas son muy sensibles y pueden sufrir fácilmente modificaciones en sus propiedades por agentes externos que alteren finalmente los tiempos de coagulación.

5. El sistema de análisis óptico del coagulómetro SM47 requiere que las muestras se encuentren estrictamente bajo las mismas condiciones durante la realización de las pruebas de coagulación, esto incluye la alineación de los dispositivos ópticos con la muestra. Para garantizar esta alineación debe conseguirse que las muestras queden siempre ubicadas en la misma posición dentro del recipiente y para ello es necesario que los tubos de ensayo sean de cristal y tengan las mismas características, grosor del vidrio y diámetro. Y además se requiere que el material en el cual se elabore el recipiente porta-muestras sea uniforme para que todos los orificios donde se ubican las muestras tengan las mismas dimensiones.

6. La temperatura a la cual se realizan las pruebas de TP, TPT y TT es muy importante ya que si se exceden los límites ($37,0^{\circ}\text{C}\pm 0,2^{\circ}\text{C}$) puede ocurrir una desnaturalización de los factores de coagulación y de los reactivos alterando los tiempos.

7. Para el sistema de control de temperatura resultó ventajosa la aplicación de la técnica de ensayo y error, ya que permitió tener en cuenta condiciones reales como la variación de la inercia térmica debido a las condiciones climáticas, que no se podrían prever con un modelo teórico debido a que para solucionar la ecuación de difusión de calor se parte de supuestos ligados a la geometría del sistema y los resultados corresponden a un modelo ideal.

8. Con el coagulómetro SM47 se realizan de 1 a 2 pruebas/minuto para el TPT y de 4 a 5 pruebas/minuto para el TP y el TT, de esta manera se está contribuyendo, por medio de la automatización, a incrementar la agilidad en la realización de las pruebas.

9. Al realizar las pruebas de TP, TPT y TT duplicando las cantidades de muestra y reactivo se concluyó que debe reducirse el diámetro de los tubos para lograr un aumento en el nivel de la mezcla que no perturbe la trayectoria del haz láser por la formación de meniscos y turbulencias en la etapa de homogenización y facilite el análisis óptico.

REFERENCIAS

- [1] FISHBACH, David. “Fundamentos de la Coagulación”, Editorial Panamericana, 1985.
- [2] ADOX critical care. “Manual de operación GEM – PCL. Laboratorio portátil de Coagulación”.
- [3] ALBERS, Daniela y Mariella DUCCI. “Pre y Post-operatorio en pacientes con trastornos de la coagulación”. Universidad Mayor, Facultad de Odontología. Marzo del 2002. Págs. 6 a 8, 20 y 22.
- [4] CHRISTMAN, Richard. “Fundamentals of state physics”. JOHN WILEY & SONS, INC. New York, October 1987. ISBN: 0471810959.
- [5] TIJONOV, A. SAMARSKY, A. Ecuaciones de la física matemática. Editorial Mir. Moscú.
- [6] KITTEL, Charles. Introduction to Solid State Physics. 7th edition. JOHN WILEY & SONS, INC. New York, July 1995. ISBN: 0471111813.
- [7] DALLAS SEMICONDUCTORS. Datasheet Sensor DS1820. www.dalsemi.com

[8] Respuesta de la sensibilidad espectral para el fotodiodo pin FDS100, de la hoja de especificaciones vendida por el proveedor de Thor-Labs.

[9] TIPPENS. “Física, Conceptos y fundamentos”. Ed. Mc. Graw Hill. Serie Schaum. Pág. 321

[10] Instrumentation Laboratory. ACL coagulation systems. Págs. 1.1-2.9