

NUEVA INTERFAZ DEL SISTEMA DIRAMIC PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

E. Suárez, Nardo Ramírez Frómeta, Estrella Alvarez Varela

Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC)

e-mail: enrique.suarez@cnic.edu.cu

RESUMEN

El Sistema para el diagnóstico rápido microbiológico DIRAMIC, detecta el crecimiento bacteriano utilizando principios fotométricos apoyados en el empleo de una computadora. Está constituido por un lector de turbidez a microflujo, una bomba peristáltica y un calibrador de inóculos, integrados en un módulo de medición y una interfaz de programa, que se encarga de la lectura e interpretación del urocultivo y del antibiograma correspondiente. La versión anterior del sistema DIRAMIC, utiliza una tarjeta comercial de adquisición de datos, con interfaz ISA: la PCL 711-B de Advantech. Debido a la casi total desaparición del BUS ISA de las placas base de los ordenadores modernos, y al alto costo de la tarjeta de adquisición hasta ahora empleada, fue necesario implementar un rediseño de la tarjeta electrónica con el objetivo de prescindir de dicha tarjeta PCL 711-B. El nuevo diseño tiene como base un microcontrolador de Texas Instruments, de la familia MSP430, con una poderosa arquitectura RISC de 16 bits y utiliza el puerto USB (Universal Serial Bus) para la comunicación con la computadora. Incorpora dispositivos programables, por lo que cualquier modificación solo conlleva cambios sustanciales en la programación y no en el diseño de nuevos componentes. Se obtuvo un prototipo que optimiza las operaciones, es más preciso y flexible, empleándose componentes de montaje superficial (SMD), y utilizando al máximo, las posibilidades que ofrece el microcontrolador.

Estos elementos simplifican la introducción de futuras mejoras y nuevas posibilidades al nuevo sistema.

Palabras claves: Sistema DIRAMIC, Diseño electrónico, interfaz, microcontrolador, adquisición.

ABSTRACT

The rapid microbiological diagnostic system DIRAMIC is supported in a computer and detects the bacterial growth using photometric principles. It is constituted by a turbidity microflow sensor, a peristaltic pump and an inoculums calibrator, integrated in measurement module and interface software on charge of the reading and interpretation of the urine culture and the corresponding antibiogram. The system's last version used a commercial acquisition card with ISA interface: the 711-B PCL one of Advantech. Due to the total exclusion of ISA bus in the actual motherboard designs and its high prices, its decided to make hardware changes in the interface card which control data transference to PC in the system. The new DIRAMIC interface card design is based on a Texas Instruments microcontroller (MSP430 family), with a powerful 16 b RISC architecture and it uses for the communication with the computer the USB port (Universal Serial Bus). It incorporates the present programmable devices, so any changes on the design only imply changes in the programming and not in the design of new components. A prototype obtained optimizes the operations; it is more precise and flexible, there were also used the Surface Mount Technology components (SMT), using the microcontroller maxim advantages. Those elements reduce the introduction of future improvements and new chances in the system.

Key words: DIRAMIC system, electronic design, interface, microcontroller, acquisition.

INTRODUCCIÓN

El Laboratorio de Microbiología Clínica tiene como función principal la detección e identificación de los organismos patógenos, causantes de infecciones, y la determinación de la susceptibilidad a los antibióticos en los sujetos bajo estudio o análisis. Son examinadas con mayor frecuencia las muestras provenientes de orina, del tracto respiratorio bajo, de heridas infectadas, de la piel, del abdomen y del sistema nervioso central. De estas, constituyen la mayor proporción, las muestras para detectar infecciones del tracto urinario (ITU). La detección e identificación del organismo responsable de la infección con las técnicas de cultivo clásicas, normalmente son seguidas de la determinación de la susceptibilidad a los antibióticos [1]. Este proceso suele ser caro, consumidor de tiempo y muy laborioso. Por estos motivos estos resultados llegan tardíamente al médico de asistencia y por consiguiente apenas pueden ser empleados para el diagnóstico y tratamiento del paciente. La magnitud del problema se refleja en varios reportes donde se señala que solo el 7% del total de la información del Laboratorio de Microbiología Clínica es utilizada en el tratamiento de pacientes sépticos [2].

Como consecuencia de lo anterior se han desarrollado sistemas automatizados para la realización de las técnicas de detección, identificación y susceptibilidad bacterianas, como son, el sistema Vitek [3], el sistema Microscan WalkAway [4] y el sistema automatizado URO-Quick [5].

Es de gran interés para los especialistas la caracterización de muestras biológicas con el objetivo de establecer un adecuado diagnóstico y esto ha conllevado a un acelerado incremento de técnicas a nivel de laboratorio, las cuales han ido reduciendo, no solo los tiempos de detección, sino la cantidad de materiales a emplear en las novedosas técnicas actuales, con la disminución de los sensores a escala nanométrica. Con el empleo de métodos de detección se ha podido caracterizar numerosas muestras y así poder identificar enfermedades y agentes causales, e incluso prevenir otras patologías en los sujetos.

En Cuba, ha sido desarrollado el sistema DIRAMIC [6-7] para el diagnóstico rápido microbiológico. Constituyendo una nueva tecnología diseñada para la determinación rápida de la infección urinaria y el estudio de la susceptibilidad antibiótica correspondiente, basada en principios de medición fotométricos. Proporciona los resultados del antibiograma en 4 horas a partir de muestras positivas de orina, hemocultivos positivos y colonias aisladas de diferente origen; la rapidez de este reporte permite el establecimiento en menor tiempo de un tratamiento con antibióticos más efectivo y racional. El sistema está formado por un módulo de medición acoplado a una microcomputadora y un sistema de programas que realiza el manejo y control del mismo.

El sistema de programas cuenta con una versión inicial sobre MSDOS, y actualmente con una versión en S.O. Windows, la cual supera en posibilidades y flexibilidad a la anterior. Para la evaluación de los antibiogramas, el sistema permite diseñar los juegos diagnósticos de antibióticos teniendo en cuenta las necesidades clínicas y las disponibilidades existentes de antibióticos.

El sistema se ve amenazado por el rápido avance tecnológico, fundamentalmente de los ordenadores, donde la interfaz a través del Bus ISA, ha ido desapareciendo de las placas madres, puesto que la adquisición y control de los datos y funcionamiento en general, es a través de una tarjeta comercial, PCL 711-B de elevado costo y a la variedad de diseños mecánicos de chasis de los mismos, dificultando el correcto manejo de las muestras a analizar.

A partir de estas limitaciones relacionadas y considerando la alta dependencia actual del Sistema DIRAMIC con la arquitectura de un PC (empleo de la tarjeta A/D conectada al bus ISA), se hace necesario la modernización del sistema (módulo de medición) y el empleo de una nueva interfaz para la comunicación entre el módulo de medición DIRAMIC y una Estación de Trabajo (PC).

Un sistema de adquisición de datos (SAD) permite la adquisición de información que caracteriza algunas propiedades de algún fenómeno en el entorno analógico. Su objetivo básico es la integración de los diferentes dispositivos que lo componen para permitir el análisis y posterior procesamiento digital de los datos adquiridos, entre estos están: transductores de diferentes tipos y naturaleza, multiplexores, amplificadores, conversores analógico/digital (A/D) y digital-analógico (D/A), además el uso de microprocesadores como unidad central para el procesamiento del SAD. El desarrollo tecnológico alcanzado en la electrónica ha traído aparejado una simplificación de estos procesos que se han hecho más exactos, versátiles y confiables.

Los sistemas que relacionan la computadora con la adquisición de datos se clasifican en: sistemas de tarjeta incorporada ('Plug-in') y sistemas externos ('Stand-alone'). Los primeros se refieren a las tarjetas que se incorporan directamente en una ranura de expansión de la computadora ('slot'), mientras que los segundos se refieren a aquellos que son remotos, permanecen alejados del ordenador y se comunican con él mediante un puerto de comunicación [8], tal es el caso de las series: LogBook Stand-Alone, Intelligent PC-Based Data Acquisition Systems, modelos LogBook/300 y LoBook/360 [9], TempScan/1100 & MultiScan/1200 [10] para sistemas externos, y los modelos con interfaz a través del bus PCI, PCI expresss, USB, PCI-5152, PCIe-4065, USB-6229 Multifunction DAQ [11] para sistemas incorporados. En ambos casos, se requiere de programas específicos necesarios para manejar los datos.

En este trabajo se abordan las características del nuevo diseño a nivel de prototipo de la tarjeta de interfaz del sistema DIRAMIC, que incluye una mejora en la comunicación de la unidad de medición con la computadora (unidad de procesamiento), utilizando el puerto USB, lo cual permite ubicar el módulo principal externamente a la computadora, lo cual lo sitúa en los niveles tecnológicos actuales, garantizando flexibilidad y eficiencia con adecuada relación prestaciones vs. costos.

METODOLOGÍA

El sistema DIRAMIC, detecta el crecimiento bacteriano utilizando principios fotométricos apoyados en una computadora. Está constituido por un lector de turbidez a microflujo, una bomba peristáltica y un calibrador de inóculos que conforman el módulo de medición, y un programa de control [12], que se encarga de la lectura e interpretación del antibiograma y del urocultivo, del almacenamiento y transferencia de los datos, y realiza el control de todos los procesos. Un esquema en bloques se muestra a continuación, de la anterior versión del DIRAMIC, donde la interfaz del sistema con la PC era a través del Bus ISA. (Figura.1)



Fig 1. Diagrama en bloques de los módulos componentes del sistema



Fig2. Nuevo hardware

El nuevo diseño (Figura 2) comprende en el módulo de medición el calibrador de inóculos, el sensor a microflujo continuo y una bomba peristáltica. Además cuenta con un adecuado acondicionamiento de la señal mediante filtros y amplificadores operacionales. El microcontrolador MSP430F155 se encarga del control y procesamiento de las señales adquiridas así como del envío de los datos a la PC. (Figura 3).

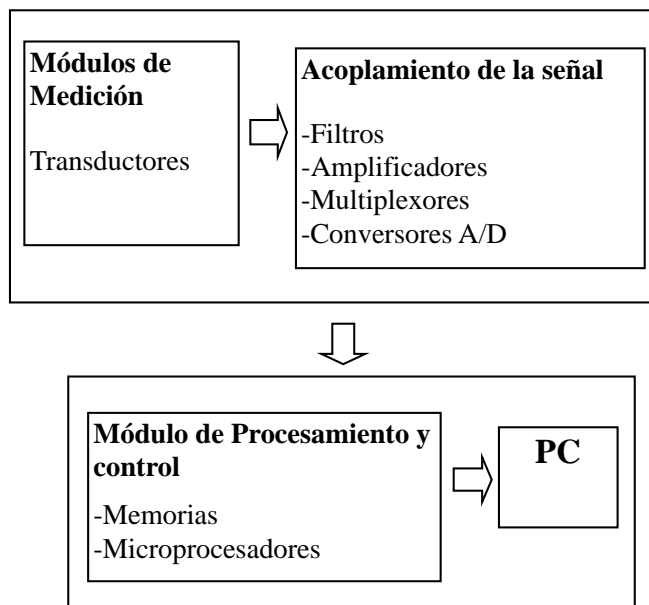


Fig 3. Diagrama en bloques de la estructura del sistema de medición.

Control y Adquisición de datos.

En el diseño de la tarjeta de interfaz del DIRAMIC con la computadora, las señales provenientes del sensor, el calibrador y el motor de la bomba peristáltica, son registradas por el conversor A/D, y llevadas a la memoria de conversión del microcontrolador MSP430F155.

La tarjeta de interfaz mide a través de los sensores opto electrónicos la turbidez de la muestra a procesar. Estos sensores están ubicados convenientemente haciéndose pasar un rayo luminoso a través de la muestra y que este se refleje en el fototransistor [7], (Figura. 4).

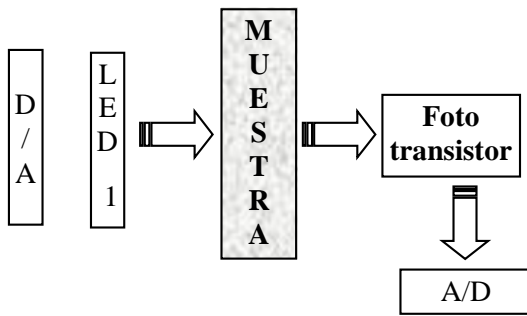


Fig 4. El haz de luz pasa a través la muestra y es recibido por el fototransistor

Para obtener una intensidad de luz adecuada (ecuación I), a la salida del convertor D/A se emplearon amplificadores operacionales conectados convenientemente a transistores (Figura. 5).

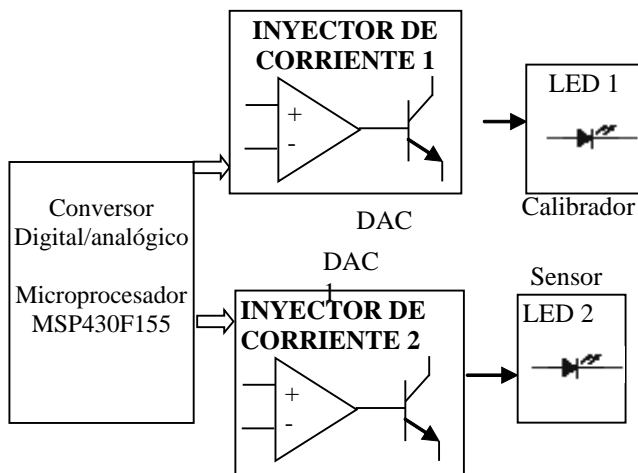


Fig 5. Diagrama en bloques del acondicionamiento de la señal.

$$I_{LED} = \frac{V_{DA}}{120 \Omega} \quad (I)$$

I_{LED} = Corriente que circula por el LED.

V_{DA} = tensión a la salida del convertor D/A
 $R = 120 \Omega$

La medición se realiza con el convertor A/D del microcontrolador el cual es aislado mediante un amplificador operacional con el objetivo de aumentar la impedancia de entrada del circuito de entrada del convertor [8].

El convertor A/D convierte la entrada analógica en su representación de 12 bits correspondiente y almacena el resultado en la memoria de conversión. La unidad utiliza dos niveles de tensión seleccionable por programa (V_{R-} y V_{R+}) para definir el límite superior e inferior de la conversión.

La salida digital (NADC) está a plena escala (0FFFh) cuando la señal de entrada es igual o mayor que V_{R+} , y 0 cuando es menor que V_{R-} . El canal de entrada y los niveles de tensión de referencia son definidos en la memoria de control de conversión.

La expresión de conversión del ADC (*Analog/Digital Converter*) esta dada por la ecuación II:

$$NADC = 4095 \frac{V_{in} - V_{R-}}{V_{R+} - V_{R-}} \quad (II)$$

NADC = Salida digital del convertor

V_{in} = Tensión de entrada al convertor A/D

V_{R-} = Tensión de referencia negativa del A/D

V_{R+} = Tensión de referencia positiva del A/D

En el diagrama en bloques de la estructura general del sistema de medición (Figura 6), puede apreciarse el módulo de medición o etapa frontal, donde se encuentran ubicados los sensores o transductores de las variables físicas a medir. La señal medida es acondicionada adecuadamente, y procesada por el microprocesador, para después ser transferida al ordenador.

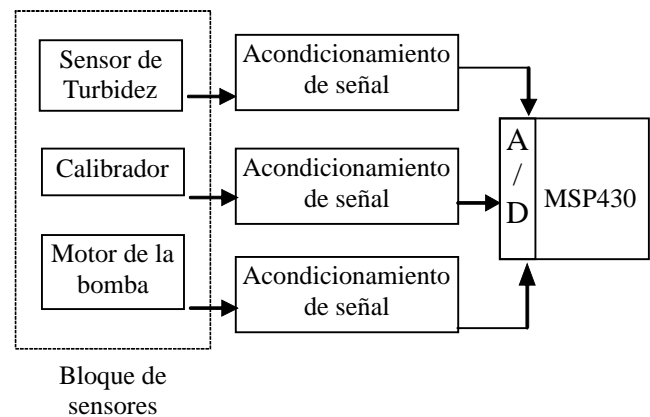


Fig 6. Diagrama en bloques de la estructura general del sistema de medición.

Control y procesamiento de datos: el microcontrolador MSP430F155.

Se empleó un elemento que fuese capaz de controlar todos los datos y señales que están involucradas en el funcionamiento de la unidad de medición: el microcontrolador MSP430F155 el cual presenta un convertor AD de 12 b un convertor D/A de 12 b y un puerto USART [13]. Para ello se hizo un estudio minucioso de algunas familias de microcontroladores, partiendo de las necesidades del sistema. También se tuvieron en cuenta los requerimientos del sistema en cuanto a precisión, exactitud y resolución así como la relación costo-beneficio.

Control del motor de la bomba peristáltica.

La figura 7 muestra el diagrama en bloque del sistema de control de la bomba peristáltica. El MOSFET actúa como interruptor cuando el consumo de corriente del motor está por encima del nivel requerido.

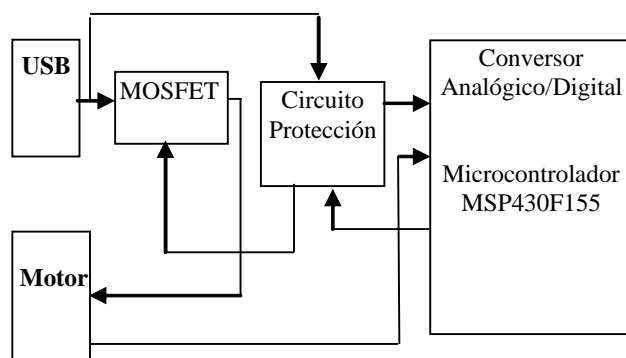


Fig 7. Esquema del control del motor de la bomba peristáltica.

De esta forma el microcontrolador, a través de una comparación del valor de corriente medido y uno prefijado en el programa, envía una señal al exterior, que avisa al usuario para que tome una decisión sobre el funcionamiento forzado del motor, que puede deberse a un sobreajuste de las mangueras por donde circula la muestra [12] (Figura. 8).

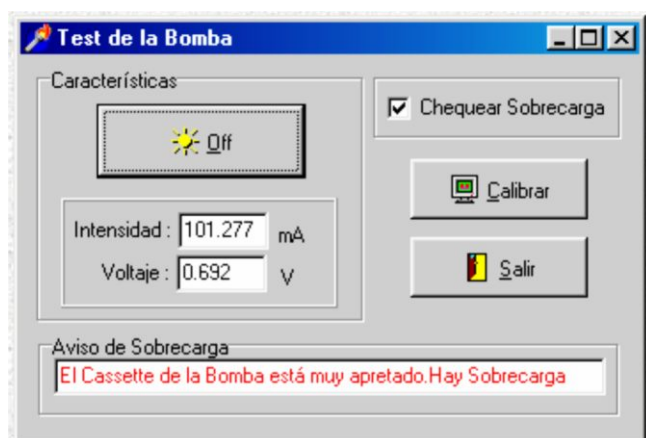


Fig 8. Ventana de alarma por sobre consumo del motor.

Comunicación serie.

Tras una revisión de las variantes de interfaz de comunicación existentes: cable serie, puerto LPT1 (paralelo), o las recientes variantes inalámbricas BlueTooth, FireWire, protocolo Ethernet, etc., se decidió emplear la difundida interfaz USB debido a la simplificación circuital, a su costo y a su velocidad de comunicación así como que además, pueden utilizarse

las líneas de alimentación (Vcc y Gnd) para energizar todo el sistema, el cual no consume más de 100 mA a +5 V, que es la corriente que puede obtenerse desde este puerto sin ocasionar daños (Figura. 9)

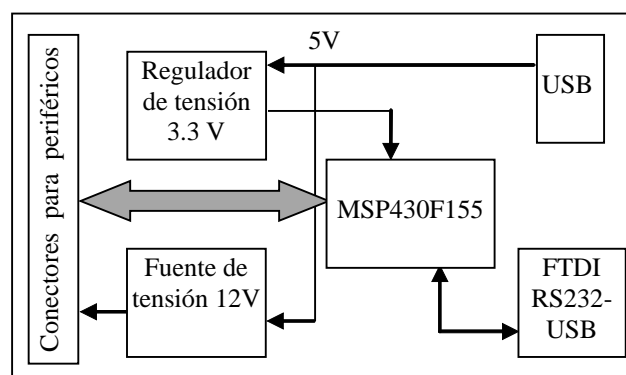


Fig 9. El nuevo diseño del sistema DIRAMIC es alimentado a través del puerto USB.

Para establecer el protocolo de comunicación entre la computadora y el microcontrolador fue necesario utilizar el CI-FTDI232BM, el cual convierte las señales provenientes del microcontrolador MSP430F155 (RS232) a USB y viceversa. Este integrado está bien difundido en dispositivos que tienen interfaz USB como memorias flash, cámaras, reproductores de música y video, etc. y su programación es relativamente simple [14].

Este dispositivo aumenta la funcionalidad, reduce el número de componentes externas, y mantiene un alto grado de compatibilidad de terminales, haciendo más fácil las actualizaciones del diseño; así como la potencialidad del dispositivo para su uso en nuevas aplicaciones.

Aunque el CI-FT232BM funciona sin memoria EEPROM opcional, se utilizó una de la familia 93C46, para caracterizar el VID USB, PID, número de serie y la descripción del equipo, garantizando el seguimiento y la protección tecnológica del diseño. La EEPROM controla otros parámetros como el encendido (despertar) remoto, el modo de transferencia isocrónico, el apagado por software y los modos descriptivos de USB 2.0. La EEPROM tiene un ancho de 16 bit como la 93C46B o una equivalente de MicroChip, es capaz de soportar 1 Mb/s a un Vcc entre 4,35V y 5,25 V, es programable 'on board', a través del USB. Esto permite una parte en blanco para ser soldada en el PCB y programada como parte del proceso de fabricación. Si la EEPROM no es conectada (o está en blanco), el FT232BM usará su VID, PID y valores descriptivos por defecto. El nuevo diseño también cuenta con una memoria de este tipo, la cual se programó a través del FTDI, desde la API. El propio FTDIChip, brinda aplicaciones para este fin, como por ejemplo, la herramienta de programa: MProg 3.0a.

RESULTADOS

El diseño para la adquisición y el control de los datos es del tipo Stand – Alone, y cuenta con un convertidor A/D incluido en el microcontrolador, que adquiere y procesa todas las señales del sistema. Estas señales, una vez recibida la interrupción correspondiente, son enviadas a la computadora, para comenzar la transferencia de los datos. Para emular esta etapa del circuito, se conectó el emulador de la familia del MSP430, a la computadora y se logró optimizar el código de programa para el control del sistema así como minimizar el error en las lecturas de los datos adquiridos.

Se realizaron varias mediciones con el propio microcontrolador a partir de un valor proveniente de una fuente patrón programable puesto a la entrada del conversor A/D, simulando un valor impuesto por el D/A. Se hicieron mediciones en varios intervalos: de 0 – 1 V, de 1 – 2 V y de 2 – 2,5 V, con el objetivo de evaluar la adquisición de valores en la escala de 0 a 2,5 V, tomando valores de tensión aleatoriamente en cada uno de ellos. En este intervalo se mueven los valores que se adquirirán, para las mediciones de turbidez de las muestras a analizar.

Los resultados fueron recogidos en un gráfico (Figura.10) pudiendo notar poca desviación de los valores en el entorno del valor real, debiéndose fundamentalmente a imprecisiones en el circuito eléctrico (fallas en las interconexiones eléctricas en el 'protoboard') lo que genera ruidos eléctricos en las

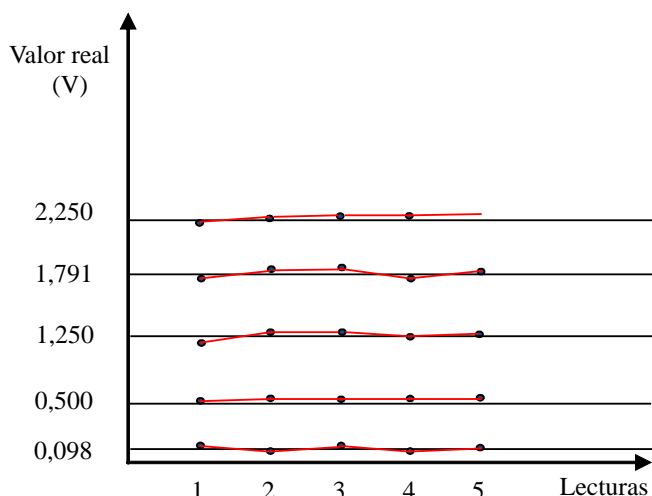


Fig 10. Gráfico de los valores adquiridos por lecturas.

El diseño tiene dentro de las principales ventajas, la característica de poder ser reprogramado, desde la aplicación, o sea, en caso de algún futuro desarrollo de la aplicación, o el sistema en general, no habría que realizar grandes cambios, ni la componente

programable (en este caso el microcontrolador) para efectuar algún cambio en el programa interno del mismo [14]. Utilizando el mismo puerto serie el microcontrolador puede ser reprogramado vía BSL (bootstrap loader).

CONCLUSIONES

A través del presente trabajo fue posible diseñar una tarjeta electrónica de interfaz para realizar el diagnóstico rápido microbiológico. La solución propuesta cumple de forma satisfactoria los requisitos para el análisis de las muestras clínicas en el Laboratorio de Microbiología. Cumpliendo con los objetivos trazados, se logró el rediseño de la tarjeta electrónica de interfaz para la nueva versión del sistema DIRAMIC. De esta forma ya no es necesario colocar el módulo de medición en el interior de una PC y se facilita el uso de las potencialidades del puerto USB de la misma. A partir del puerto USB es posible obtener la alimentación del sistema y establecer la transferencia de los datos entre el dispositivo y la PC. La asistencia técnica será mucho más sencilla, pues el ensamblaje del equipo resulta menos engorroso que su versión anterior. La nueva versión de la tarjeta electrónica de interfaz permite una reducción significativa del costo de producción del sistema.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Murray P.R., Jo Baron E., Pfaller M.A., Tenover F.C. and Tenover F.C. Manual of Clinical Microbiology, ASM PRESS, Washington, 1995.
- [2] Edwards L.D., et al. Ordering patterns and utilization of bacteriologic culture reports Arch. of Inf. Med. 132:678-682, 1973.
- [3] Moland E.S., K.S. Thomson and C.C. Sanders (1997) "Vitek II A New Rapid Susceptibility Test System", In 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), an Annual Meeting of the American Society for Microbiology, Toronto, Ontario, Canadá.
- [4] Kelly M.T. and C. Leicester (1992) "Evaluation of the Autoscan Walkway system for rapid identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli". Journal of Clinical Microbiology, 30:(6): 1568-1571.
- [5] Spezzotti G. (1996) "The URO-QUICK system: technical features and analytical performances", Monographs of Laboratory Medicine, GALENO, Vol. 4, Italy.
- [6] Contreras O.R., A. Pascual, M.A. Campos y J.C. Serufo (1995a) "Detección de la sepsis urinaria y del antibiograma por el sistema DIRAMIC-10. Reporte preliminar del Laboratorio Central de Belo-Horizonte. Brasil", Rev. CENIC, Vol. 26, No. Especial.

[7] Contreras O.R., Roura G., Novo F., Hernández S., Ramírez N., Ramírez I., Travieso F., Zayas A. and Romay C. No. 09/420.074, WO9847999A1: Equipment, kit and method for microbiological diagnosis. 2003.

[8] Suárez E. Diseño de un dispositivo para el Diagnóstico Rápido Microbiológico. Tesis de Diplomado, Cujae. Julio 2004.

[9] <http://www.iotech.com/catalog/daq/logbook.html> (Revisado junio 2007).

[10] <http://www.iotech.com/thermo.html> (Revisado junio 2007).

[11] <http://www.ni.com/dataacquisition/> (Revisado abril 2007).

[12] Tillán G., Alvarez E., Vinardell I. y Novo F. Sistema de programas para el equipo Diramic 10 en Windows. Rev. CENIC Ciencias Biológicas, 34, 1, 29-34, 2003.

[13] MSP430x1xx family of Texas instruments.pdf. Company Headquarters: Texas Instruments Incorporated 12500 TI. Boulevard Dallas, TX 75243-4136 800-336-5236 (Revisado enero 2007).

[14] http://www.ftdichip.com/Documents/DataSheets/DS_FT232BM.pdf. (Consultado enero 2007).

