

CÉLULA ROBOTIZADA DE BAJO COSTE PARA REALIZAR TINCIONES DE GRAM DE FORMA AUTOMÁTICA

J. Soto Rudas¹, C. Peña Cortés², L. Mendoza³

¹ SIARC - Grupo de Automatización y Control, Departamento de Ingeniería Mecánica, Mecatrónica e Industrial, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia, ingmecajuan@gmail.com

² Grupo de Automatización y Control, Departamento de Ingeniería Mecánica, Mecatrónica e Industrial, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia, cesarapc@unipamplona.edu.co

³ Grupo de Ingeniería Biomédica, Departamento de Ingeniería Eléctrica, Electrónica, Sistemas y Telecomunicaciones, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia, luis.mendoza@unipamplona.edu.co

Resumen

En este artículo se presentan los resultados alcanzados en la construcción de una celda robótica para hacer tinciones de Gram sobre bacterias. Se muestra una breve descripción del proceso de tinciones, una descripción de la automatización del proceso, el diseño del equipo biomédico, su estructura, análisis cinemático y el desarrollo de la interfaz hombre máquina. Finalmente se muestran los resultados obtenidos, donde se pudo corroborar el correcto funcionamiento del mismo frente a los requerimientos del proceso. Con la construcción de este dispositivo se pudo constatar que es posible automatizar este tipo de procesos disminuyendo la inversión directa del personal hospitalario y disminuyendo los riesgos biológicos que pueden ocurrir.

1. Introducción

La ingeniería biomédica es considerada como la integración de la ingeniería y las ciencias de los organismos vivos, con esa idea construir una celda robótica que acondiciona agentes microscópicos (bacterias) busca dar un aporte al avance de esta disciplina, esto debido a que actualmente en Colombia existe un uso ineficiente de los recursos tecnológicos [1].

En el desarrollo de nuevas tecnologías, maquinarias y equipos, la biomédica está dando grandes adelantos. Estos proyectos se están manejando con interfaces HMI, permitiendo una comunicación entre el equipo y el personal que lo maneja como forma de elemento transductor [2].

Para la microbiología clínica los procesos de tinciones resultan de gran utilidad, esto debido que permiten obtener los resultados a partir de muestras clínicas, y luego obtener las características de las muestras para que finalmente se realice la clasificación de las bacterias [3].

Otra de las ramas en las que se aplican las tinciones de Gram es en el análisis de las bacterias de tuberculosis que constituyen un gran problema de salud pública a nivel mundial [4]. El proyecto pretende brindar mayor seguridad a las personas, esperando como desenlace que esta investigación genere un aporte a los procedimientos

médicos hospitalarios, y de forma similar a la ingeniería genética [5] en la búsqueda de nuevos organismos.

Las tinciones de Gram es un procedimiento del diario vivir del personal profesional en el área de laboratorios clínicos y análisis de bacterias, lo cual puede ser causante de posible estrés laboral producido por la repetitividad de este tipo de tareas, dando como desenlace errores humanos que aumenta cada vez más en las instituciones de salud [6].

El presente trabajo busca la inclusión de un nuevo dispositivo de fácil uso y con un bajo costo económico debido a la falta de presupuesto para la salud en Colombia [7,8], evitando que se presten servicios de buena calidad [9].

Diferentes trabajos se han realizado usando el procesamiento de imágenes en datos microbiológicos. Es posible que utilizando diferentes técnicas matemáticas se logre desarrollar una herramienta computacional que ayude a obtener resultados más eficientes y a bajo costo [10,11], siendo estas técnicas una posible proyección a futuro para este proyecto.

El artículo se encuentra organizado de la siguiente manera: en la sección 2 se presenta los materiales y métodos planteados para realizar los procesos de tinciones Gram, la sección 3 muestra los resultados que hasta ahora se han obtenidos, la sección 4 presenta las conclusiones a las que se han llegado y finalmente una discusión.

2. Materiales y métodos

2.1. Elementos empleados para el desarrollo

Para la selección de materiales se consideró una construcción amigable con el medio ambiente donde los principales recursos estructurales fueron: el PLA que es un polímero biodegradable y fibra de madera aglutinada (MDF); se utilizaron dos Arduino maestro-esclavo encargados de la parte control, servomotores para el accionamiento del brazo, módulos de relés destinados para la etapa de potencia y unas electrobombas para el suministro de los reactivos.

2.2. Proceso de tinciones de Gram y su automatización.

2.2.1 Las tinciones de Gram.

El proceso de tinción es un método que permite al analista realizar una óptima visualización de las bacterias y con esto poder clasificarlas.

Intentar clasificar las bacterias directamente sin antes pasar por este método es algo muy complicado. Para dar le solución a esto se utiliza el proceso de tinciones de Gram, que si es seguido rigurosamente permitirá visibilizar los microorganismos u observarlos con mejor nitidez. La idea de este robot es realizar el método paso a paso para que las bacterias puedan ser analizadas y clasificadas.



Figura 1. Muestra con hisopo-Frotis sobre el portaobjeto.

El proceso para realizar las tinciones consta de primeramente realizar un frotis sobre un portaobjeto de vidrio limpio y seco. Con un hisopo se toma una pequeña muestra del cultivo y se hace una mezcla con agua o una solución salina, luego es esparcida uniformemente sobre el portaobjeto (ver Figura 1).

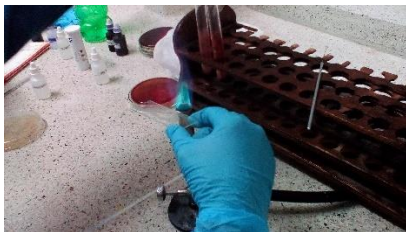


Figura 2. Fijación de las bacterias.

El paso siguiente es fijar las bacterias con calor (como en la Figura 2), se acerca levemente el portaobjeto a un mechero y se espera hasta que seque, esto también se puede introducir dentro de un horno o esperar al medio ambiente, todo depende de la rapidez con la que se deseen los resultados [12].

Seguido se continua con el proceso de tinción de Gram (Figura 3) planteado por[12]:

1. Se deposita cristal violeta a las bacterias y se deja secar por un minuto.
2. Durante aproximadamente dos segundos se debe lavar con una corriente suave de agua.
3. Se añade yodo de Gram y se espera por un minuto.
4. Durante aproximadamente dos segundos se debe lavar con una corriente suave de agua.
5. Agregar un agente decolorante y luego de 15 a 30 segundos se remueve con agua.
6. Se deposita safranina y se espera de 30 segundos a un minuto.

7. Limpiar el portaobjeto con una dosis considerable de agua hasta remover todo el líquido. Finalmente secar suavemente con un papel absorbente.
8. Para observar los resultados del proceso al microscopio es necesario añadir aceite de inmersión. Al terminar la tinción de Gram, las bacterias Gram-negativas mancharan de una coloración rosadas/rojas y las bacterias Gram-positivas mancharan de azul/purpura.

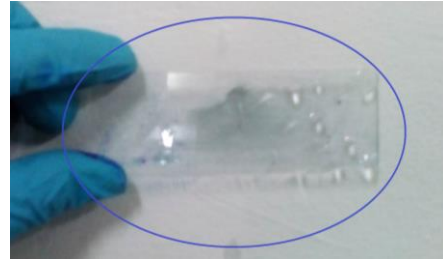


Figura 3. Proceso de tinciones de Gram.

2.2.2 Automatización del proceso

En la búsqueda seguridad y estandarización de este proceso mencionado en el ítem anterior se creó un proceso autónomo.

Por seguridad, para que el proceso pueda iniciar todas las compuertas de la cabina deben estar cerradas.

Inicialmente a el robot se le ubicará el portaobjeto en la posición inicial. El primer movimiento que se hará es el del brazo robótico antropomórfico de 4 grados de libertad, cuya misión será la de ir por el portaobjeto que contiene las bacterias, pasando por un pequeño horno donde permanecerá aproximadamente 70 segundos a una temperatura de entre 80 °C y 90 °C.

En este proyecto es mejor utilizar un horno para fijar las bacterias, debido a la generación de gases contaminantes que pude emitir un mechero.

La segunda estación está integrada por los siete primeros pasos del proceso de tinciones de Gram, los reactivos se almacenarán en unos silos, y sus suministros serán controlados por unas electrobombas. Este proceso tiene una duración aproximada de 400 segundos.

Una vez finalizado el recorrido por los reactivos se procederá a dejar ubicado el portaobjeto con las bacterias en la compuerta de final de proceso. Un profesional en el área entrara a realizar el análisis y la clasificación de las bacterias de acuerdo a la coloración y forma que adoptaron una vez finalizado el desarrollo del proceso.

2.3. Diseño e implementación del robot propuesto

El diseño fue desarrollado considerando cada etapa del proceso, la distribución del óptimo espacio de trabajo y flexibilidad.

El proyecto incluye un brazo robótico antropomórfico cuya función principal es la de ubicar el portaobjeto en cada punto de trabajo y siguiendo un estricto orden.

2.3.1 Diseño del brazo robótico.

Se inició con el desarrollo del prototipo principal que es el brazo robótico antropomórfico de 4 grados de libertad (ver Figura 4), el cual tiene como característica principal de diseño la inclusión de rodamientos de cargas axiales para cada articulación, esto con la idea de mejorar la estabilidad y el rendimiento del mismo, además de reducir la carga que se les deposita a los motores.

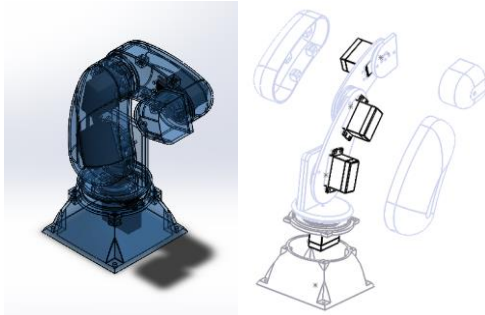


Figura 4. Diseño del brazo robótico antropomórfico de 4 grados de libertad.

2.3.2 Diseño de estructural de la celda.

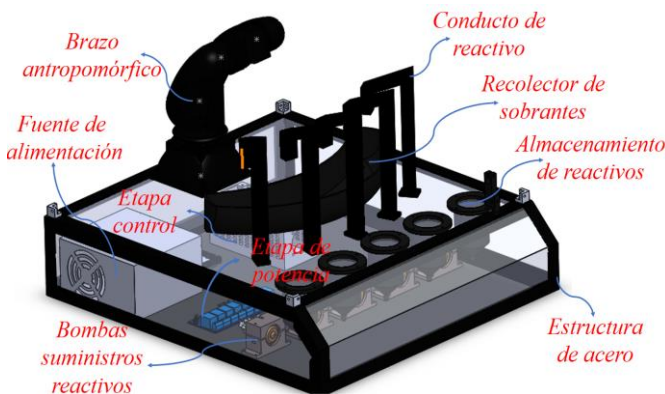


Figura 5. Diseño final de la celda robótica para el proceso de tinciones de Gram.

Se buscó una estructura compacta, segura y rígida. El espacio de la estructura es el ideal para el correcto desarrollo de las tinciones de Gram, con una distribución de los suministros en forma radial para acoplarse con el área de trabajo del brazo robótico articular (como en la Figura 5).

2.3.3 Análisis cinemático y dinámico

El análisis cinemático permite tener el control del brazo robótico y ubicarlos en el espacio X-Y-Z junto con una orientación del efector final, que para este caso es la herramienta que sostendrá el portaobjetos.

Se utilizó la cinemática directa que fue calculada utilizando el algoritmo de Denavit-Hartenberg, cuya función es ubicar el robot dándole ángulos a cada articulación. Seguido se utilizó la cinemática inversa por el método geométrico, cuya función es ubicar el robot

espacialmente. Combinando estos métodos se obtuvo el posicionamiento del brazo [11,12].

Se realizó el cálculo del modelo dinámico inverso del robot utilizando el método recursivo Lagrange-Euler [15], donde se obtuvo un resultado con la estructura que se muestra en la ecuación 1. En esta se observa: τ que es el vector de torque, D - la matriz de inercia, H - las fuerzas de Coriolis, C - la fuerza de gravedad y q - las variables articulares.

$$\tau = D(q)q'' + H(q, q') + C(q) \quad (1)$$

Este modelo permitió realizar un simulador donde se pudo analizar los posibles comportamientos del robot y calcular los máximos pares requeridos durante las trayectorias (ver Figura 9).

Luego de las verificaciones en el simulador se pudieron obtener los máximos pares necesarios para los motores y de esta forma hacer proceso de selección e implementación.

3. Resultados



Figura 6. Célula robótica.

Se terminó la construcción de la célula teniendo en cuenta todas las características de diseño (como en la Figura 6), La programación está integrada por las cinemáticas y las trayectorias del brazo, y un enlace con una interface HMI (ver Figura 7) que es intuitiva al manejo, donde no es necesario tener conocimientos en programación para su uso.

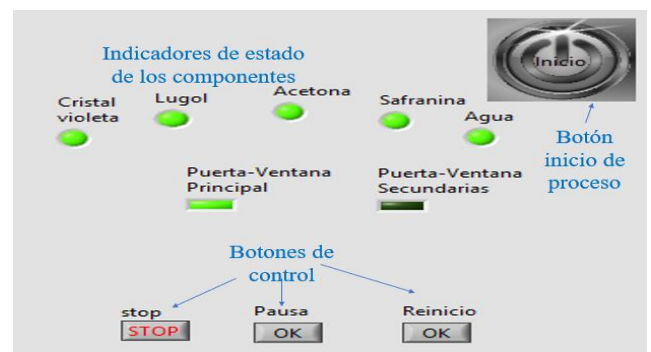


Figura 7. Interface HMI.

Se probó el funcionamiento de la celda, obteniendo una fluidez en los movimientos acorde a la aplicación y ubicándose en los puntos deseados (Figura 8).

Se realizó una prueba donde se tomó el tiempo que dura una persona realizando el proceso manual, seguido lo

realizó el robot y se obtuvo que el robot mostró una reducción en tiempo de aproximadamente un 50% (Tabla 1). En la (Figura 9) se observa el comportamiento articular arrojado por el simulador, donde se pudo corroborar que no hubiera colisiones ni interferencia.



Figura 8. Funcionamientos.

segmento	Descripción	t. Celda	t. Manual
a	Recoger el porta objeto	25 seg.	70 seg
b	Fijación de la bacteria	45 seg.	125 seg.
c	Primer reactivo y remoción.	100 seg.	210 seg
d	Segundo reactivo y remoción.	93 seg.	210 seg.
e	Tercer reactivo y remoción.	65 seg.	105 seg.
f	Cuarto reactivo y remoción	60 seg.	105 seg.
g	Posición final.	15 seg.	0 seg.
	Total	403 seg	825 seg

Tabla 1. Tiempos del proceso manual frente automatizado.

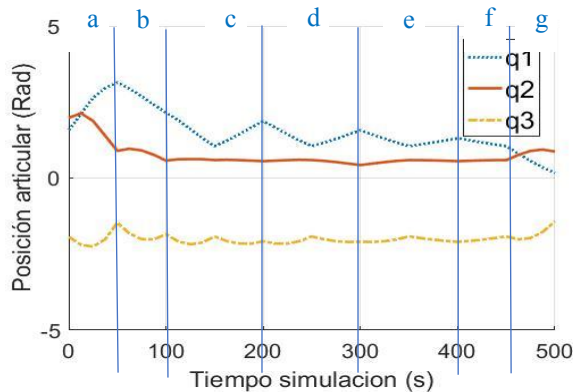


Figura 9. Grafica simulada del comportamiento en la articulación q3.

4. Conclusión

El proceso de tinción usando un sistema mecatrónico, permitió obtener resultados satisfactorios ya que se evidencia que los tiempos mejoraron aproximadamente un 50%, por otro lado, los avances obtenidos hasta el momento permiten evidenciar que la aplicación puede ser utilizada por los expertos con el fin de tener mejor exactitud en el proceso de tinción.

Los elementos utilizados cumplieron de manera importante su función al punto donde el proceso de

tinción se llevó a cabo de manera eficiente y exacta, comparados con los resultados manuales.

Debido al uso de los rodamientos de cargas axiales, el brazo robótico desarrolló un mejor desempeño.

5. Discusión

Considerando la reducción de tiempo que se llegó a obtener aplicando las tinciones en la celda robótica es notable que se obtiene una ventaja en comparación al proceso manual, a esto se le añade el bajo presupuesto invertido, y se llega a un robot con una buena funcionalidad.

El robot realiza en un 100% las trayectorias obtenidas con los cálculos y podría brindar una reducción de los posibles riesgos por contacto bacteriano.

6. Referencias

- [1] K. Bastidas, O. Bermúdez, and F. Obando, "Process of Acquisition and Renovation of Biomedical Technology", *Rev. Ing. Biomédica*, pp. 79–83, 2017.
- [2] F. Simini, "Ingeniería Biomédica perspectivas desde el Uruguay", Universidad de la Republica Oriental del Uruguay, 2007, (ISBN 978-9974-0-0367-5).
- [3] L. López, M. Hernández, A. Colín, S. Ortega, G. Cerón, and R. Franco, "Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología," *Rev. Investicion. en discapacidades*, vol. 3, no. 1, pp. 10–18, 2014.
- [4] N. Alvis, M. Carrasquilla, V. Gómez, J. Robledo, N. Alvis, and J. Hernández, "Precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares para detectar la tuberculosis multirresistente," *Rev. Biomédica*, vol. 37, pp. 397–407, 2017.
- [5] D. Pires, S. Cleto, S. Sillankorva, J. Azeredo, and T. Lu, "Genetically Engineered Phages : a Review of Advances over the Last Decade," *Rev. Microbiology and Molecular Biology Review*, vol. 80, no. 3, pp. 523–543, 2016.
- [6] D. Arias, J. Camacho, and J. Osorno, "Mejora de habilidades en la seguridad del paciente implementando una estrategia de entrenamiento en el personal asistencial," *Rev. Ing. Biomédica*, vol. 10, no. 20, pp. 21–25, 2017.
- [7] M. A. Ardila and A. Gómez, "Metodo de Incorporación Estratégica de tecnología Biomédica para Instituciones de Salud", *Rev. Ing. Biomédica*, Vol 10, pp. 35–42, 2016.
- [8] M. Cardona, A. J. Márquez, and C. A. Peña, "Design, Construction and Implementation of a Multifunctional Robotic Platform With Educational Purpose", *Rev. Entre Ciencia e Ingeniería*, no. 16, pp. 9–15, 2014.
- [9] C. Castaño and L. Pérez, "Análisis comparativo de modelos de gestión de tecnología biomédica," *Rev. Ing. Biomédica*, vol. 9, no. 18, pp. 41–49, 2015.
- [10] J. Sánchez, "Procesado Digital de imagen para la estimación del área ocupada por microorganismos sobre probetas de cemento y yeso", T. Grado, Universidad Politécnica de Valencia, 2016.
- [11] A. García, T. Annia, C. Elio and Q. Odalis, "Histochemistry distribution of mucins and number of leucocytes in the lungs of postweaning pigs exposed to E. coli lipopolysaccharide (LPS)" *Rev. Journal of Agriculture and Animal Sciences*, vol. 6, no. 1, pp. 60–73, 2017.
- [12] A. Smith and M. Hussey, "Gram Stain Protocols", *Rev. American Society for Microbiology*, May 2017, pp. 1–9, 2016.
- [13] J. Duran, C. Peña, and O. Gualdron, "Design Of Robotic Systems For Fig Classification with Educational Aims", *Rev. Redes de Ingeniería*, pp. 66–79, 2013.
- [14] D. Lopez, J. Hernández and C. Peña, "Advances in the control of bipedal platforms using the system", *Rev. Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, Vol 2, N. 22, pp 117-124, 2013.
- [15] P. Contreras, C. Riaño, and C. Peña, "Robotic Module for Lulo (Solanum Quitoense) Classification Using Computer Vision," *Rev. Ing. CUC*, vol. 10, pp. 51–62, 2014.