

# **Automatización del Procedimiento de Análisis para la Clasificación HLA PCR SSP<sup>1</sup>**

Por  
Ricardo Jaramillo M.  
Gerente  
Ricardo Jaramillo y Cía.

## **Productos Usados:**

- LabVIEW
- IMAQ
- PCI-1411 Tarjeta de adquisición de video.

## **El Desafío:**

Diseñar y construir un sistema fácil de usar, que elimine el error humano y facilite el procedimiento de análisis para la clasificación HLA PCR SSP<sup>1</sup>.

## **La Solución:**

Un sistema de adquisición que registra la imagen de un gel de electroforesis por medio de luz ultravioleta, luego lo analiza para detectar las bandas significativas y por medio de éstas encuentra los alelos correspondientes a la muestra.

## **Introducción:**

La identidad biológica de un individuo es una consecuencia del conjunto específico de genes que el individuo tiene. Sin embargo, para distinguir miembros de la misma especie, es necesario utilizar genes suficientemente variables, de tal manera que su presencia identifique cada individuo de la población.

Hasta ahora el sistema genético más variable (polimórfico) conocido para los humanos es el sistema HLA.

Dado su potencial para la discriminación biológica de individuos, las combinaciones de genes HLA se usan en las ciencias forenses, en la criminología, en identificación de paternidad y en la selección de donantes de órganos para transplantes.

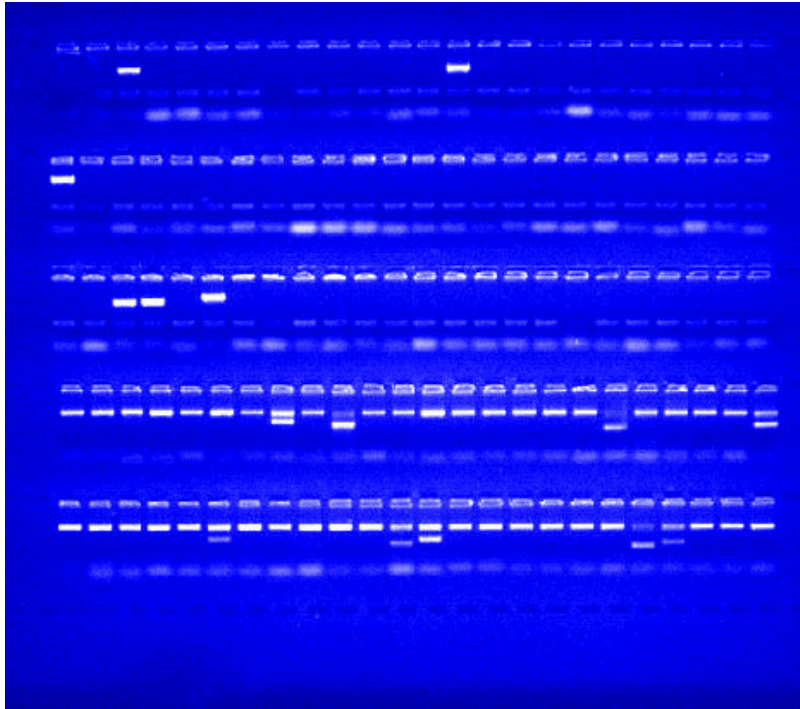
El método más común para estudiar las combinaciones particulares de HLA de un individuo es la clasificación molecular. Este método está basado en una gran amplificación del ADN por medio de una técnica conocida como

---

<sup>1</sup> HLA - Human Leukocyte Antigen  
PCR - Polymerase Chain Reaction  
SSP - Single Stranded Polymorphism

PCR (Polymerase Chain Reaction), por medio de esta técnica puede obtenerse una amplificación de los genes HLA hasta de un millón de veces a partir de cantidades minúsculas de ADN. Las moléculas de ADN obtenidas, se discriminan luego en un gel por medio de la electroforesis. Este gel se coloca en una cámara iluminada con luz ultravioleta y se obtiene una fotografía (Ver figura 1), la cual es analizada por un experto para encontrar los alelos correspondientes.

Este proceso de identificación de alelos requiere mucha experiencia por parte del personal que lo ejecuta, por lo tanto, una automatización del análisis, mejora la objetividad, la confiabilidad y la rapidez del proceso.



**Figura 1.** Fotografía del gel de electroforesis.

#### **Resumen:**

El sistema descrito acá, automatiza el procedimiento de análisis y clasificación HLA PCR SSP, con el fin de encontrar los alelos correspondientes a cada individuo.

Algunas de las funciones realizadas por el sistema son:

- Adquirir la imagen del gel.
- Localizar las 5 filas de 24 pozos, cada una en donde se deposita el material genético con los reactivos correspondientes.
- Localizar e identificar las bandas que presentan amplificación de material genético.
- Determinar la intensidad luminosa de cada banda.
- Determinar el desplazamiento de cada banda sobre el gel.
- Buscar en tablas que asignan cada combinación de bandas, localizaciones e intensidades a un grupo de alelos.
- Resaltar las bandas amplificadas que no están siendo utilizadas en la selección de alelos.
- Mostrar las bandas adicionales que se requieren para completar la selección de un grupo de alelos que incluya las bandas amplificadas que aún no están codificando alelos.
- Mostrar todas las bandas amplificadas (seleccionadas) clasificadas por grupos.
- Mostrar los alelos encontrados y resaltar si sobran o faltan (debe haber como máximo 2 alelos en cada uno de los 5 grupos y como mínimo 1).
- Imprimir un reporte y almacenar los resultados en formato de hoja electrónica.

## Interfase de Usuario:

Ver figura 2.

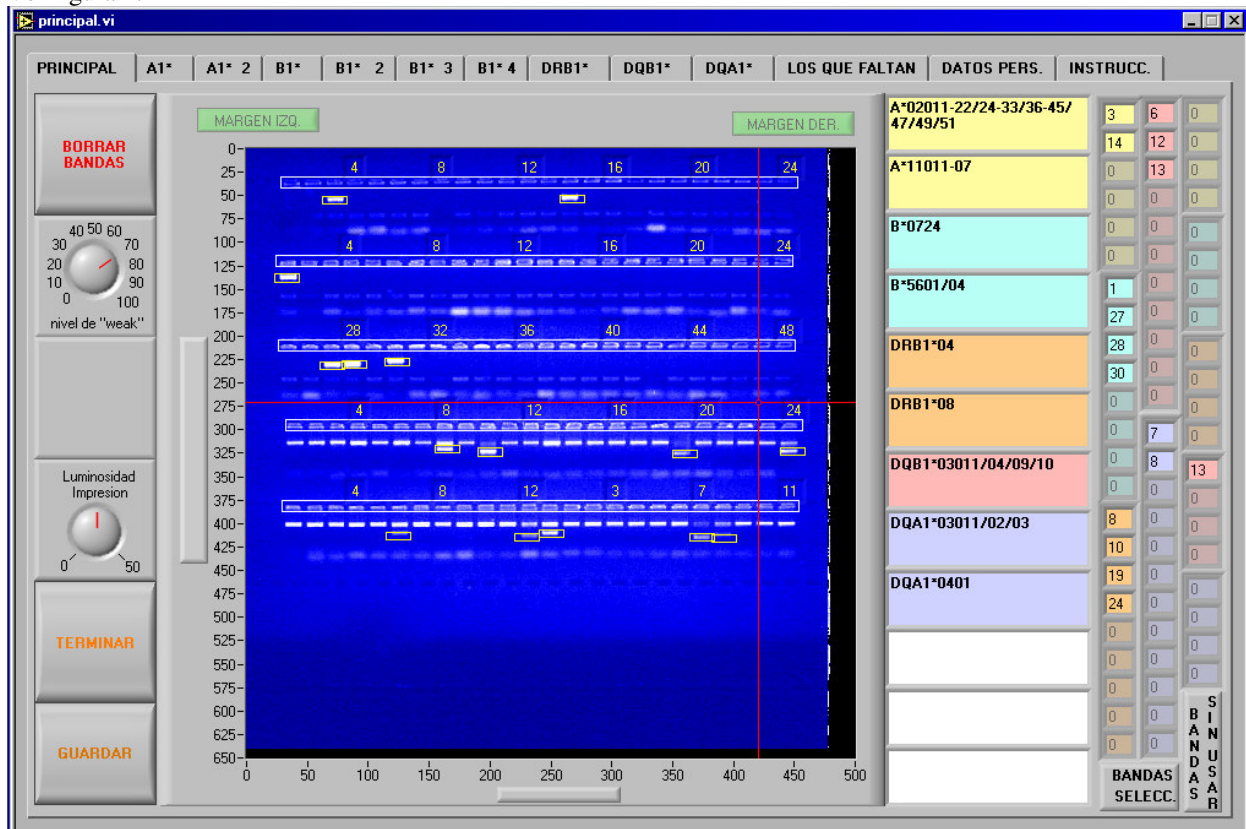


Figura 2. Interfase principal de usuario

El panel frontal está hecho a manera de carpetas seleccionables a partir de su rótulo colocado en la parte superior. En la parte central de la carpeta “PRINCIPAL”, aparece la fotografía del gel y en esta se superponen 5 rectángulos que encierran los 120 pozos dispuestos en 5 filas donde se realizó la siembra del material genético, se superpone también una numeración que marca las posiciones de cada fila y que se adecua a la escala de la fotografía y finalmente se superponen rectángulos pequeños que encierran las bandas donde hubo amplificación de material genético. El operador puede seleccionar bandas que el programa no detectó o quitar la selección en las bandas que el programa detectó erróneamente. A medida que se retiran o añaden bandas, el programa realiza la búsqueda de los alelos y los muestra clasificados en grupos por medio de 5 colores, adicionalmente el programa tiene 12 interfaces que le permiten al usuario realizar algunas funciones complementarias tales como : consultar las tablas que relacionan los grupos de bandas con los alelos , ver cuales serían las bandas que hacen falta para completar los grupos que aun no codifican alelos , observar los datos personales correspondientes a la muestra , modificar el informe y leer las instrucciones del programa.

### Ventajas:

La principal ventaja del sistema es que elimina muchos errores durante el proceso de análisis, tales como:

- Errores al contar las posiciones de las bandas (para el grupo B1\*, segunda y tercera filas, el técnico debe contar hasta 48 posiciones). Si el técnico se equivoca al contar y declara una posición como 28 en vez de 29, los alelos resultantes cambian y todo el análisis queda equivocado.
- Error al hacer la búsqueda en las tablas basándose en las posiciones de las bandas amplificadas a lo largo de las filas, sus intensidades y el trayecto recorrido por éstas . Este puede ser el error más frecuente debido a la complejidad de las relaciones entre conjuntos de bandas y alelos.

Otras ventajas adicionales son:

- Ahorra tiempo: Un técnico bien entrenado se demora de 5 a 10 minutos para realizar una clasificación sin la ayuda del programa y 2 minutos con la ayuda de éste. Para un principiante los tiempos son 30 y 3 minutos respectivamente.

El tiempo de clasificación es muy importante, ya que en algunos casos la clasificación debe realizarse mientras el paciente está en cirugía.

- Personal menos calificado: Con la ayuda de este programa no se requiere un técnico con mucho entrenamiento para realizar la clasificación.

Esto último es muy importante, ya que este análisis está siendo revisado permanentemente y las tablas que relacionan las bandas y los alelos cambian continuamente, por lo tanto el técnico debe aprender a manejar las nuevas tablas que llegan.

### **Características del Programa:**

Lenguaje: LabVIEW 6.02

Sistema operativo: Windows

Número de VI'S: 34 creados por el autor y 14 tomados de LabVIEW

Número de horas de desarrollo: 500

Paneles frontales: 14

Indicadores: 124

Controles: 21

### **Conclusiones:**

Este sistema es una herramienta valiosa para todos los laboratorios dedicados a realizar este procedimiento de clasificación de HLA, debido a que mejora la objetividad, la confiabilidad y la velocidad del proceso.