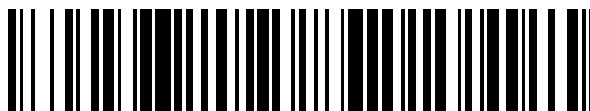


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 658 099**

51 Int. Cl.:

G01N 1/31

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.11.2005 PCT/US2005/043105**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.06.2006 WO06060379**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2005 E 05852394 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2017 EP 1817567**

54 Título: **Aparato de tratamiento de portaobjetos**

30 Prioridad:

02.12.2004 US 2164

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

08.03.2018

73 Titular/es:

**LAB VISION CORPORATION (100.0%)
47790 WESTINGHOUSE DRIVE
FREMONT, CA 94539, US**

72 Inventor/es:

**TAKAYAMA, GLENN, K.;
TSEUNG, KEN, K.;
RHETT, NORMAN, K.;
WONG, WAI, BUN;
BURD, SAMUEL;
HARTER, GEORGE, A. y
MORRISON, DOUGLAS**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 658 099 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Aparato de tratamiento de portaobjetos

5 Campo de la invención

La invención se refiere en general a un aparato de tratamiento de portaobjetos y, más en concreto, a un aparato para tratar portaobjetos que soportan especímenes biológicos en un líquido calentado.

10 Antecedentes de la invención

Una amplia mayoría de especímenes para estudios histológicos son tejidos fijados, incluidos en parafina. Para que las secciones tomadas de tejidos incluidos en parafina sean teñidas o procesadas de otro modo para examen y análisis, hay que quitar la parafina de las secciones. Los primeros métodos de desparafinización empleaban disolventes orgánicos inflamables, volátiles y tóxicos, como xileno, para quitar la parafina. Sin embargo, ahora hay en el mercado agentes desparafinizantes no orgánicos más seguros. Además, la Patente de Estados Unidos número 6.632.598 describe un solvente de desparafinización compuesto de hidrocarburos no polares con puntos de ebullición de entre 140°C y 250°C, disolventes orgánicos polares y surfactantes. Se usan típicamente solventes no inflamables, no volátiles, en unión con calentamiento a temperaturas iguales o superiores a la temperatura de fusión de la parafina, aproximadamente 50-57°C. Por ejemplo, la desparafinización de una sección de tejido se puede hacer poniendo el portaobjetos con el tejido en un horno con elementos de calentamiento por resistencia, un horno microondas, olla a presión, vaporera, baño de agua u otra plataforma térmica.

Los especímenes procesados con formalina y/u otros fijadores, y destinados a algunos procedimientos de inmunohistoquímica (IHC), se benefician del tratamiento adicional para exponer sitios antigénicos, denominado recuperación de antígeno (epítipo), durante o después de la desparafinización. La formalina es un fijador efectivo porque entrecruza proteínas que hacen el tejido resistente a la descomposición. Pero el entrecruzamiento puede enmascarar epítipos y evitar el reconocimiento de estos sitios por reactivos a anticuerpos usados en procedimientos IHC. Así, la finalidad de los procesos de recuperación de antígeno es desenmascarar epítipos ocultos, generalmente por medio de un método semidestructivo.

Los primeros métodos de desenmascarar antígenos utilizaban enzimas proteolíticas para la digestión parcial de una sección de tejido. Un inconveniente principal de la digestión enzimática es que los especímenes tienden a variar en cuanto a la cantidad de tiempo necesaria para la suficiente recuperación de antígenos, pero incluso una suave sobreexposición puede dar lugar a destrucción de la morfología del tejido o a pérdida de tejido del portaobjetos y por lo general aumenta la interacción de fondo no específica con reactivos a anticuerpos.

El calentamiento por microondas se ha convertido en un sustituto popular, o complemento, de la digestión enzimática para desenmascarar antígenos en secciones de tejido fijadas. Sin embargo, el calentamiento por microondas no es ideal. Por lo general, los hornos microondas no son capaces de distribuir uniformemente el calor por todo el compartimiento de calentamiento, incrementando el riesgo de que algunos portaobjetos puedan calentarse poco mientras que otros se calientan en exceso. El calentamiento por microondas produce una ebullición intensa que da lugar a la evaporación del líquido reactivo de recuperación de antígeno en contacto con los portaobjetos, de modo que, de ordinario, el método requiere varias rondas de exposición a microondas interrumpidas por el llenado de los recipientes que contienen los portaobjetos y la solución de tratamiento. Además, dado que el calentamiento por microondas es difícil de controlar, el tejido puede dañarse y/o perderse durante el procesado.

Hay en el mercado varios instrumentos automatizados que proporcionan protocolos para el pretratamiento, incluyendo la desparafinización y la recuperación de antígeno, y la tinción, pero, aunque estos instrumentos permiten realizar simultáneamente diferentes procedimientos de tinción e IHC, no permiten la realización simultánea de desparafinización y/o recuperación de antígeno conjuntamente o con cualquier otro procedimiento. Un sistema automatizado de recuperación de antígeno, el "i1000™", fabricado y vendido por BioGenex (San Ramon, CA), es una excepción, capaz de realizar simultáneamente desparafinización y recuperación de antígeno, pero usa calentamiento por microondas.

Aunque tales dispositivos de tratamiento de portaobjetos a menudo funcionan bien, tienen algunas desventajas. Por ejemplo, los dispositivos conocidos de tratamiento de portaobjetos incluyen componentes robóticos y otras partes móviles, lo que incrementa los costos de adquisición y los esfuerzos de mantenimiento. Además, los dispositivos conocidos de tratamiento de portaobjetos no tienen un modo operativo que evite la ebullición de la solución de desparafinización u otro líquido que se use y, por ello, permiten el desperdicio de solución en el proceso de ebullición y/o el posible daño del espécimen. Además, los dispositivos conocidos de tratamiento de portaobjetos no supervisan el nivel de la solución en el dispositivo y pueden permitir que el nivel de la solución caiga por debajo de los portaobjetos, lo que puede afectar adversamente al proceso de tratamiento de portaobjetos.

Así, se necesita un dispositivo de tratamiento de portaobjetos de costo razonable, fácil de mantener, y que tenga mayor capacidad de superar las desventajas de los dispositivos conocidos de tratamiento de portaobjetos.

US 6191398 describe un baño seco con un bloque conductor de calor que tiene una pluralidad de agujeros adaptados para recibir tubos conteniendo muestras de material. El baño seco incluye un calentador y un sensor de temperatura montado en el bloque.

5

Resumen de la invención

La invención proporciona un aparato que incluye una base que incluye una cavidad dispuesta en la base, un calentador dispuesto inmediatamente adyacente a una superficie de la cavidad, un sensor de temperatura montado en la base y un sistema de control conectado eléctricamente al calentador y el sensor de temperatura, caracterizado porque el aparato es para tratar portaobjetos en un rack de portaobjetos e incluye además un depósito que puede soportarse de forma extraíble en la cavidad con una superficie de depósito inmediatamente adyacente al calentador, estando adaptado el depósito para recibir un líquido y el rack de portaobjetos con los portaobjetos dispuestos en el líquido, pudiendo operar el sensor de temperatura para proporcionar una señal de realimentación que representa la temperatura del líquido en el depósito, y porque el sistema de control incluye entrada/salida de usuario operable para seleccionar un modo operativo para calentar el líquido, un filtro de constante de tiempo más larga sensible a muestras de temperatura del líquido y que produce un primer valor medio de temperatura, y un filtro de constante de tiempo más corta sensible a muestras de temperatura del líquido y que produce un segundo valor medio de temperatura, determinando el sistema de control una temperatura del líquido que es aproximadamente igual a la temperatura de ebullición del líquido en respuesta a que la diferencia entre el primer valor medio de temperatura y el segundo valor medio de temperatura es sustancialmente igual a un valor predeterminado.

En una realización, el aparato tiene una pluralidad de cavidades en las que se puede montar una pluralidad de depósitos. Cada cavidad tiene un calentador y un sensor de temperatura, y el sistema de control está conectado a los calefactores y sensores de temperatura y es operativo para controlar independientemente un proceso de tratamiento de portaobjetos diferente en cada uno de los depósitos.

En otra realización de la invención, el depósito tiene un sensor de nivel de líquido; y el control es operativo para dar al usuario una indicación en respuesta a la detección de un nivel bajo de líquido. En otra realización, el control es efectivo para bloquear automáticamente la cubierta en el depósito al inicio del proceso de tratamiento de portaobjetos y, posteriormente, desbloquear automáticamente la cubierta cuando el líquido se ha enfriado a una temperatura de finalización.

Se describen procesos para tratar portaobjetos que incluyen un modo de precalentamiento y/o un modo de no ebullición. El modo de precalentamiento pone inicialmente el líquido a una temperatura de inicio, y el modo de no ebullición mantiene la temperatura del líquido justo por debajo de su temperatura de ebullición durante el proceso de tratamiento de portaobjetos.

En realizaciones preferidas se facilitan: un módulo de tratamiento de portaobjetos que tiene dos o más depósitos de procesamiento controlables independientemente, de modo que diferentes procesos de tratamiento de portaobjetos puedan realizarse simultáneamente; un módulo de tratamiento de portaobjetos que puede evitar la ebullición de una solución de tratamiento, reduciendo por ello sustancialmente la cantidad de solución usada y, por lo tanto, el costo del proceso de tratamiento de portaobjetos; un módulo de tratamiento de portaobjetos que puede supervisar de forma continua el nivel de la solución en cada uno de los depósitos de procesamiento y avisar al usuario si el nivel de solución cae a un nivel que puede afectar adversamente al proceso, y un módulo de tratamiento de portaobjetos que es especialmente útil como un módulo de pretratamiento al realizar simultáneamente desparafinización y recuperación de epitopo inducida por calor en secciones de tejido fijadas con formalina, incluidas en parafina, antes de la inmunotinción.

Estos y otros objetos y ventajas de la presente invención serán más fácilmente evidentes durante la descripción detallada siguiente tomada en unión con los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una vista en perspectiva de una realización de un módulo de tratamiento de portaobjetos con la cubierta cerrada según los principios de la presente invención.

La figura 2 es una vista en perspectiva del módulo de tratamiento de portaobjetos de la figura 1 con la cubierta abierta y los depósitos y los racks de portaobjetos cargados en el módulo de tratamiento de portaobjetos.

La figura 3 es una vista en perspectiva del módulo de tratamiento de portaobjetos de la figura 1 con la cubierta abierta y que representa los depósitos y los racks de portaobjetos desmontados del módulo de tratamiento de portaobjetos.

La figura 4 es una vista en sección transversal del módulo de tratamiento de portaobjetos tomada a lo largo de la línea 4-4 en la figura 1.

La figura 5 es una vista en sección transversal longitudinal del módulo de tratamiento de portaobjetos tomada a lo largo de la línea 5-5 en la figura 1 y que representa un sensor de posición de cubierta.

5 La figura 6 es un diagrama esquemático de bloques de un sistema de control para operar el módulo de tratamiento de portaobjetos de la figura 1.

La figura 7 es un diagrama de flujo esquemático de los ciclos de operación del módulo de tratamiento de portaobjetos de la figura 1.

10

Descripción detallada de la invención

Con referencia a la realización representada en las figuras 1, 2 y 3, un módulo de tratamiento de portaobjetos 20 tiene una base 21 y una cubierta extraíble 22 que se puede montar en la base con bisagras 23. La base 21 contiene dos cavidades 24a, 24b que están dimensionadas para recibir y soportar respectivos depósitos 25a, 25b. Alternativamente, la base 21 puede contener más de dos cavidades 24. Los depósitos 25 se llenan de una solución o líquido de tratamiento de portaobjetos 29, y los racks de portaobjetos 27 que sujetan los portaobjetos 28 se sumergen en la solución. La cubierta 22 tiene juntas estancas 41a, 41b que rodean los respectivos depósitos 25a, 25b cuando la cubierta 22 está cerrada y bloqueada con un pestillo manual 39.

20

Con referencia a una realización de las figuras 3, 4 y 5, cada uno de los depósitos 25a, 25b tiene bloques de soporte 44, 45 montados en las paredes de extremo del depósito. Cada par de bloques de soporte 44, 45 recibe lengüetas de soporte 40 de racks de portaobjetos 27 que mantienen los portaobjetos 28 tratados en una solución 29 en un depósito respectivo 25a, 25b. Cada uno de los depósitos 25a, 25b está diseñado para soportar dos o más racks de portaobjetos, por ejemplo, los racks de portaobjetos que se usan con cualquier teñidor automático fabricado por Lab Vision Corporation (Fremont, CA). Así, después del tratamiento, los racks de portaobjetos 27 pueden ser transferidos directamente al teñidor automático sin manejo adicional. Cada una de las cavidades 24a, 24b tiene un calentador respectivo 30a, 30b sobre o dentro de una o más superficies de las cavidades 24a, 24b, por ejemplo, la superficie inferior de las respectivas cavidades 24a, 24b. Ventiladores de enfriamiento 31a, 31b están montados en las paredes de extremo de las respectivas cavidades 24a, 24b. Cada una de las cavidades 24a, 24b tiene respectivas líneas de drenaje 32a, 32b y respectivos agujeros de ventilación 33a, 33b. El aislamiento 34 de la base rodea las cavidades 24a, 24b en tres lados, y el aislamiento 35 de la cubierta está sobre las cavidades 24 cuando la cubierta 22 está cerrada. En cada uno de los bloques de soporte 44, 45 se ha montado un tornillo respectivo de detección de nivel de líquido 46, 47 y que se extiende hacia abajo a un depósito respectivo 25a, 25b.

25

30

35

En la realización representada en las figuras 4, 5 y 6, un control de sistema 50 incluye un módulo de potencia 52 montado en la base 21 y un módulo de control 37 montado en la cubierta 22, que contiene un controlador 54 y una pantalla táctil 38 que proporciona un dispositivo de entrada/salida de usuario. La pantalla táctil 38 y el controlador 54 funcionan conjuntamente para proporcionar una serie de pantallas al usuario. Las pantallas permiten al usuario entrar y almacenar en el controlador 54 las temperaturas establecidas de la solución para cada uno de los depósitos 25a, 25b y los tiempos de ciclo para los procesos de tratamiento de portaobjetos para cada uno de los depósitos 25a, 25b. En otra realización, las pantallas permiten al usuario entrar y almacenar en el controlador 54 si un ciclo de precalentamiento y/o un modo de no ebullición están habilitados o inhabilitados para cada uno de los depósitos 25a, 25b. El módulo de potencia 52, el controlador programable 54 y la pantalla táctil 38 están conectados operativamente por medio de un bus de datos 56.

40

45

El controlador 54 también es operativo para detectar un nivel de la solución en los depósitos detectando la continuidad entre un par de tornillos de detección 46, 46 situados en extremos opuestos de cada uno de los depósitos 25a, 25b. Si la solución se evapora y cae por debajo del nivel de la parte inferior de los tornillos 46, 47, se pierde la continuidad; y el controlador 54 proporciona una indicación de error en la pantalla táctil 38 y/o una alarma audible. Además, si el controlador 54 determina que el fluido está bajo cuando se cierra la cubierta, se genera una pantalla de error; y se inhabilita la realización del ciclo de tratamiento de portaobjetos. Además, las cavidades 25a, 25b tienen respectivos sensores de temperatura 58a, 58b que permiten al controlador 54 detectar una temperatura de una solución en las cavidades respectivas. El controlador 54 también es capaz de detectar cuándo la cubierta se abre y cierra supervisando el estado de un sensor de posición de cubierta 64 representado en las figuras 5 y 6. Por ejemplo, cuando la cubierta se cierra, una lengüeta 65 (figura 3) situada en la cubierta 22 acciona el sensor de posición de cubierta 64, por ejemplo, un interruptor de límite, situado en la base 21. Además, si el controlador 54 determina que la cubierta está cerrada, también es operativo para activar un solenoide de bloqueo de cubierta 66 (figuras 3 y 6) en la cubierta 22, que hace pasar un pasador 67 a través de un agujero 68 en la base 21, evitando por ello que el usuario abra la cubierta 22.

50

55

60

En el uso, el usuario introduce primero el depósito 25b en la cavidad 24b, y coloca el depósito 25b en o inmediatamente adyacente al calentador 30b. A continuación, el usuario llena el depósito 25b con una solución tampón o solución de tratamiento de portaobjetos deseada, cerciorándose de que el nivel de solución esté por encima de la parte inferior de los tornillos de detección de nivel de líquido 46, 47. Después, se colocan uno o varios racks de portaobjetos 27 que sujetan los portaobjetos 28 en el depósito lleno de solución 25b sumergiendo los

65

portaobjetos en la solución. En un proceso alternativo, antes de la colocación en el depósito 25b, el depósito se puede llenar con la solución de tratamiento de portaobjetos deseada y colocar los portaobjetos en él. La cubierta 22 se cierra y bloquea después con el pestillo manual 39. Cuando la cubierta 22 está cerrada, contactos de muelle 42 apoyan contra las cabezas 48 de los tornillos de detección de nivel 46, 47, proporcionando por ello continuidad eléctrica desde los tornillos 46, 47 al controlador 54.

Entonces, el usuario utiliza la pantalla táctil 38 para introducir las temperaturas y tiempos de ciclo establecidos para el proceso de tratamiento de portaobjetos en cada uno de los depósitos 25a, 25b y, opcionalmente, habilitar un modo de precalentamiento y/o un modo de no ebullición para cada uno de los depósitos 25a, 25b. Para cualquier ciclo de tratamiento de portaobjetos dado, la operación de los depósitos 25a, 25b es sustancialmente idéntica; y, por lo tanto, solamente se describirá el ciclo de tratamiento de portaobjetos con respecto al depósito 25b.

Con referencia a la realización ejemplar de la figura 7, si el modo de precalentamiento está inhabilitado, al recibir del usuario una orden de ejecución mediante la pantalla táctil 38, el controlador 54 supervisa en primer lugar el estado del sensor de cubierta 64. Si la cubierta 22 no está cerrada, el controlador 54 detiene el ciclo y crea una pantalla de error en la pantalla táctil 38. Si la cubierta 22 está cerrada, el controlador 54 activa el solenoide de bloqueo de cubierta 66, que bloquea la cubierta 22 en la base 21, evitando por ello que el usuario abra la cubierta durante el ciclo de tratamiento de portaobjetos. A continuación, el controlador 54 da órdenes, mediante el bus 56, al módulo de potencia 52 de encender el calentador 30b. Simultáneamente, el módulo de potencia 52 supervisa el sensor de temperatura 58b y proporciona al controlador 54 una señal de realimentación que representa la temperatura de la solución del depósito 25b. El controlador 54 inicia un modo de calentamiento ordenando al módulo de potencia 52 que ponga en funcionamiento el calentador 30b de manera conocida, por ejemplo, usando un bucle PID, hasta que el sensor de temperatura 58b detecte una temperatura de la solución sustancialmente igual a la temperatura establecida introducida por el usuario. En ese punto, el controlador 54 pone en marcha un temporizador interno 60 que comienza a contar el tiempo del ciclo de tratamiento de portaobjetos; y el controlador 54 sigue ordenando la operación del calentador 30b para mantener la solución a la temperatura establecida. Cuando el controlador 54 determina mediante el temporizador 60 que la duración del ciclo de tratamiento de portaobjetos es sustancialmente igual al tiempo de ciclo introducido por el usuario, el controlador 54 ordena al módulo de potencia 52 que apague el calentador 30b y encienda el ventilador de enfriamiento 31b. El controlador 54 sigue supervisando el primer sensor de temperatura 58b hasta que detecta una temperatura de la solución sustancialmente igual a una temperatura de finalización, por ejemplo, 60°C, que se ha preestablecido en el controlador 54. En ese punto, el controlador 54 desactiva el solenoide de bloqueo de cubierta 66, lo que permite al usuario utilizar el pestillo manual 39 para abrir la cubierta 22.

Si el usuario ha habilitado el modo de precalentamiento, al recibir del usuario una orden de ejecución, el controlador 54 ordena al módulo de potencia 52 que encienda el calentador 30b hasta que el controlador detecte que la temperatura de la solución en el depósito 25b es sustancialmente igual a una temperatura de inicio, por ejemplo, 60°C. A continuación, el controlador 54 procede a accionar el solenoide de bloqueo de cubierta 66, y el ciclo de tratamiento de portaobjetos prosigue como se ha descrito previamente.

En la realización representada en la figura 7, durante un procedimiento de preparación, el usuario puede usar la pantalla táctil 38 para seleccionar una característica de no ebullición que es operativa durante el ciclo de calentamiento. Al seleccionar el modo de no ebullición, el usuario también introduce, como una temperatura de referencia, una temperatura conocida superior al punto de ebullición de la solución o una temperatura de referencia máxima programable, por ejemplo, 112°C. En la operación, durante el modo de calentamiento, el controlador 54 supervisa el sensor de temperatura 58. Al detectar la temperatura de aproximadamente 90°C de la solución, el controlador 54 ejecuta la característica de no ebullición supervisando la tasa de aumento de la temperatura (dT/dt). La tasa de aumento de la temperatura es detectada alisando las lecturas del sensor de temperatura o las muestras con un par de filtros de promediado, teniendo un primer filtro 61 (figura 6) una constante de tiempo más corta (τ_1) y teniendo un segundo filtro 62 una constante de tiempo más larga (τ_2). Dado una entrada constante de potencia, la diferencia entre las salidas de los dos filtros es sustancialmente constante cuando la temperatura del fluido está muy por debajo de su punto de ebullición; pero cuando se aproxima al punto de ebullición, las salidas de los dos filtros comienzan a converger. Al llegar al punto de ebullición, cesa el aumento de la temperatura de la solución; y las salidas de los dos filtros son sustancialmente idénticas. Justo antes de llegar a este estado de régimen, la diferencia de salida entre los filtros disminuye a un umbral de convergencia definido. Un umbral de convergencia teórico está relacionado con las dos constantes de tiempo de filtro por la fórmula siguiente:

$$(T_{\text{thres}}) < k * (dT/dt) * (\tau_2 - \tau_1);$$

donde $0 < k < 1$.

Así, el diseño del sistema requiere elegir valores por defecto para k, las constantes de tiempo de los dos filtros, la temperatura umbral de convergencia y una reducción de temperatura de referencia. La selección de un conjunto óptimo de valores por defecto dependerá del volumen del depósito, la potencia aplicada y la carga térmica que presenten la solución y los portaobjetos; y, como se apreciará, las variables se determinan a menudo experimentalmente. Con una potencia aplicada de aproximadamente 350 vatios y un volumen de fluido del depósito

de 1,5 litros, la tasa de cambio de temperatura dT/dt se determina de modo que sea de aproximadamente $0,04^{\circ}\text{C}$ por segundo. Un valor de la constante k , por ejemplo, $k = 0,31$, es el resultado de un compromiso de diseño entre una temperatura de fluido adecuadamente alta, por una parte, y menos generación de vapor, tiempo de convergencia más corto e inmunidad a lecturas espurias del sensor, por la otra. Otros valores por defecto que se considera empíricamente que cumplen los compromisos indicados son: $T_{\text{thres}} = 0,5^{\circ}\text{C}$, $\tau_2 = 50$ segundos, y $\tau_1 = 10$ segundos. Sin embargo, como se apreciará, τ_1 puede ser del rango de aproximadamente 5 a 10 segundos; τ_2 puede ser del rango de aproximadamente 25 a 50 segundos; pero pueden usarse otros valores de dichas variables.

El controlador 54 supervisa la temperatura umbral de convergencia para determinar cuándo la solución se aproxima a su punto de ebullición. En una realización, al detectar una temperatura umbral de convergencia de aproximadamente $T_{\text{thres}} = 1,0^{\circ}\text{C}$, el controlador 54 reduce la temperatura de referencia programada a una nueva temperatura de referencia inferior que se mantiene durante el resto del ciclo. La nueva temperatura de referencia inferior se calcula reduciendo la temperatura de salida del filtro de constante de tiempo corta aproximadamente $1,0^{\circ}\text{C}$. La nueva temperatura de referencia inferior no se visualiza en la pantalla táctil 38. A continuación, cuando el controlador 54 detecta una temperatura umbral de convergencia de $T_{\text{thres}} = 0,5^{\circ}\text{C}$, el controlador 54 proporciona una indicación "EBULLICIÓN" en la pantalla táctil 38. Entonces, el controlador 54 pone en funcionamiento el calentador 30b para mantener la solución en el depósito 25b a la nueva temperatura de referencia inferior. El resto del ciclo de tratamiento tiene lugar por debajo de la temperatura de ebullición, permitiendo así que el espécimen hierva a fuego lento en el líquido de tratamiento.

Como se apreciará, el sistema antes descrito puede diseñarse de muchas formas diferentes. Por ejemplo, durante el procedimiento de preparación, después de que el usuario selecciona el modo de no ebullición, el controlador 54 puede poner automáticamente una temperatura de referencia inicial igual a la temperatura de referencia máxima programable, por ejemplo, 112°C , simplificando por ello la programación del modo de no ebullición. Además, en algunas realizaciones, la temperatura umbral de convergencia puede ponerse a cualquier valor superior a cero, intentando por ello mantener la temperatura del líquido por debajo de la temperatura de ebullición. En otras realizaciones, la temperatura umbral de convergencia puede ponerse a cero, permitiendo por ello que el líquido llegue a la temperatura de ebullición. Todas las realizaciones proporcionan un sistema que, dada una temperatura de referencia inicialmente programada superior a la temperatura de ebullición, calienta automáticamente el líquido a, o a un poco menos de, la temperatura de ebullición, y, a continuación, mantiene el líquido a una temperatura de hervido inferior a la temperatura de ebullición. El hervido, en contraposición a la ebullición, reduce en gran medida los riesgos de daño y/o pérdida del tejido y evita la evaporación rápida de la solución de tratamiento, de modo que se precisa menos solución para el tratamiento. El modo de no ebullición no requiere conocimiento del punto de ebullición por parte del usuario y, de esta forma, hace que la operación del módulo 20 sea sustancialmente más simple que en los dispositivos conocidos.

El controlador 54 también permite al usuario interrumpir o pausar un ciclo de operación en el depósito 25b del módulo de tratamiento de portaobjetos 20. Cuando el usuario da una orden de pausa mediante la pantalla táctil 38, el controlador 54 apaga el calentador 30b, detiene el temporizador de cuenta atrás 60, si está funcionando, y desbloquea la cubierta 22. Así, la pausa permite al usuario acceder a los portaobjetos durante la operación de un ciclo de procesado. Si una orden de pausa hace que un calentador se apague durante el modo de no ebullición cuando la temperatura del líquido es superior a 90°C , se interrumpe la operación antes descrita del algoritmo de no ebullición. Además, la longitud de la pausa de operación impactará en el valor medio móvil de la temperatura del líquido proporcionado por los dos filtros. Para permitir que la salida de los dos filtros sedimente después de una operación de pausa, el controlador 54 requiere que la temperatura del líquido sea superior a 90°C y que el calentador se encienda de nuevo durante un período mínimo de tiempo antes de que las salidas de los dos filtros sean supervisadas de nuevo para detectar una temperatura umbral de convergencia. El período de tiempo mínimo deberá ser adecuado para que los dos filtros establezcan una trayectoria válida después de restablecer la potencia, por ejemplo, el mínimo período de tiempo puede ser sustancialmente igual a la constante de tiempo más larga τ_2 .

Así, el módulo de tratamiento de portaobjetos 20 proporciona varios ciclos automatizados de tratamiento de portaobjetos que pueden usarse para proporcionar un amplio rango de aplicaciones de tratamiento de portaobjetos. La operación automatizada proporciona fácilmente procesos repetibles más consistentes con menos ensayo y error, lo que permite al usuario menos experto operar el módulo. Con los dos o más depósitos controlables independientemente 25a, 25b, el módulo de tratamiento de portaobjetos 20 puede ejecutar simultáneamente dos o más procesos diferentes de tratamiento de portaobjetos, incrementando por ello la producción del módulo. Además, el modo de no ebullición evita el desperdicio de la solución de ebullición, reduciendo por ello la cantidad de solución usada y, por lo tanto, reduciendo el costo del proceso de tratamiento de portaobjetos. El módulo de tratamiento de portaobjetos 20 también supervisa de forma continua el nivel de la solución en cada uno de los depósitos de procesado y avisa al usuario si el nivel de solución cae a un nivel que puede afectar adversamente al proceso.

Aunque el módulo de tratamiento de portaobjetos 20 puede usarse como un módulo de pretratamiento para efectuar simultáneamente la desparafinización y la recuperación de epitopo inducida por calor en secciones de tejido fijadas, incluidas en parafina, antes de la inmunotinción, se anticipan otros usos que emplean calentamiento de la solución.

Aunque la invención se ha ilustrado mediante la descripción de varias realizaciones y aunque las realizaciones se han descrito en detalle considerable, no hay intención de restringir ni de limitar de ninguna forma a tal detalle el alcance de las reivindicaciones anexas. Ventajas adicionales y modificaciones serán fácilmente evidentes a los expertos en la técnica. Por ejemplo, en las realizaciones ejemplares descritas, en el modo de no ebullición, una nueva temperatura de referencia inferior se determina a partir de la temperatura de salida del filtro de constante de tiempo más baja. En una realización alternativa, la nueva temperatura de referencia inferior puede determinarse reduciendo una lectura del sensor de temperatura por un incremento de temperatura fijo en respuesta a un valor predeterminado del umbral de convergencia. En otra realización alternativa, durante un procedimiento de preparación, el controlador 54 proporciona al usuario una selección de reducciones de temperatura, por ejemplo, 0,5, 1,0, 1,5 y/o 2,0°C o más; y la reducción de temperatura seleccionada por el usuario se usa para calcular una nueva temperatura de referencia inferior.

En las realizaciones descritas, el usuario opera una pantalla táctil 38 para introducir una sola temperatura de referencia y un solo tiempo de ciclo para cada uno de los depósitos 25a, 25b. Sin embargo, en otras aplicaciones y realizaciones del módulo de tratamiento de portaobjetos 20, el controlador 54 puede ser programado para ejecutar procesos de tratamiento de portaobjetos que utilizan múltiples temperaturas de referencia en múltiples períodos de tiempo. Además, las múltiples temperaturas de referencia y los períodos de tiempo pueden ser seleccionados por el usuario usando la pantalla táctil 38. Además, el controlador 54 tiene la capacidad de controlar la tasa de aumento o caída de la temperatura durante el calentamiento o el enfriamiento, respectivamente. El controlador 54 tiene la capacidad adicional de capturar las condiciones de procesamiento en tiempo real para visualización en la pantalla táctil 38 o para posterior análisis de control de calidad u otro procesamiento.

En las realizaciones descritas, el bus de datos 56 proporciona comunicaciones entre el módulo de potencia 52, el controlador 54 y la pantalla táctil 38. Sin embargo, en realizaciones alternativas, el bus de datos 56 puede estar conectado a una red de área local, una red de área ancha o internet, lo que permitirá que la operación del módulo de tratamiento de portaobjetos 20 sea supervisada desde una posición remota. Así, las condiciones de procesamiento en tiempo real pueden ser capturadas y almacenadas a distancia para análisis de control de calidad y/o como parte de la historia del material procesado. Además, tal conexión de red también permite que el módulo de tratamiento de portaobjetos 20 sea programado desde una posición remota.

En las realizaciones descritas, el controlador 54 proporciona visualizaciones en la pantalla táctil 38 en respuesta a condiciones de detección de error tales como un nivel bajo de solución. En otras realizaciones, al usuario se le pueden indicar las condiciones de error con luces, sonidos u otras alarmas o indicadores perceptibles de forma sensorial.

Además, en las realizaciones descritas, la cubierta 22 evita que el usuario esté expuesto a un líquido de ebullición, proporciona un ligero gradiente de presión para permitir una temperatura ligeramente más alta y actúa como un aislante para proporcionar un control más preciso de la temperatura. Sin embargo, en realizaciones alternativas, en aplicaciones donde es aceptable un control menos preciso de la temperatura, la cubierta 22 puede eliminarse del módulo 20.

En las realizaciones descritas, un sensor de temperatura 58 está montado en una pared inferior de la cavidad 24. En realizaciones alternativas, la temperatura de la solución puede ser detectada directamente, por ejemplo, por una sonda de temperatura sumergida en la solución, o indirectamente, por ejemplo, por un sensor de infrarrojos u otro dispositivo remoto de medición de la temperatura.

REIVINDICACIONES

1. Un aparato incluyendo una base (21) incluyendo una cavidad (24) dispuesta en la base, un calentador (30) dispuesto inmediatamente adyacente a una superficie de la cavidad (24), un sensor de temperatura (58b) montado en la base y un sistema de control (50) conectado eléctricamente al calentador (30) y al sensor de temperatura (58b), **caracterizado porque** el aparato está destinado a tratar portaobjetos en un rack de portaobjetos e incluye además un depósito (25) que puede soportarse de forma extraíble en la cavidad con una superficie de depósito inmediatamente adyacente al calentador, estando adaptado el depósito (25) para recibir un líquido (29) y el rack de portaobjetos (27) con los portaobjetos (28) dispuestos en el líquido (29), siendo activable el sensor de temperatura (58b) para proporcionar una señal de realimentación que representa una temperatura del líquido (29) en el depósito (25), y porque el sistema de control incluye una entrada/salida de usuario (38) operable para seleccionar un modo operativo para calentar el líquido, un filtro de constante de tiempo más larga sensible a muestras de temperatura del líquido y que produce un primer valor medio de temperatura, y un filtro de constante de tiempo más corta sensible a muestras de temperatura del líquido y que produce un segundo valor medio de temperatura, determinando el sistema de control (50) una temperatura del líquido que es aproximadamente igual a la temperatura de ebullición del líquido en respuesta a que una diferencia entre el primer valor medio de temperatura y el segundo valor medio de temperatura es sustancialmente igual a un valor predeterminado.
2. El aparato de la reivindicación 1, donde la entrada/salida de usuario (38) puede funcionar para proporcionar una temperatura de referencia superior a la temperatura de ebullición del líquido.
3. El aparato de la reivindicación 1, incluyendo además un sensor de nivel de líquido (46, 47) montado en el depósito para detectar un nivel del líquido en el depósito (25).
4. El aparato de la reivindicación 1, donde el calentador (30) incluye un calentador de resistencia.
5. El aparato de la reivindicación 1, donde el calentador (30) incluye un calentador de resistencia soportado por silicona.
6. El aparato de la reivindicación 1, donde el sistema de control (50) incluye un módulo de potencia (52) conectado al calentador (30) y el sensor de temperatura (58b) y un controlador programable (54) conectado al módulo de potencia (52) y la entrada/salida de usuario (38).
7. El aparato de la reivindicación 6, donde el sistema de control (50) incluye además un enlace de datos (56) en comunicaciones eléctricas con el módulo de potencia (52), el controlador programable (54) y la entrada/salida de usuario (38).
8. El aparato de la reivindicación 1, incluyendo además una cubierta (22) montable de forma extraíble en la base (21) para cubrir el depósito (25) en una posición cerrada, donde la cubierta (22) puede bloquearse automáticamente en la base (21) en respuesta a una operación del sistema de control (50).
9. El aparato de la reivindicación 8, donde la cubierta (22) puede bloquearse automáticamente en la base (21) en respuesta a que el sistema de control (50) detecta la posición de cierre de la cubierta (22).

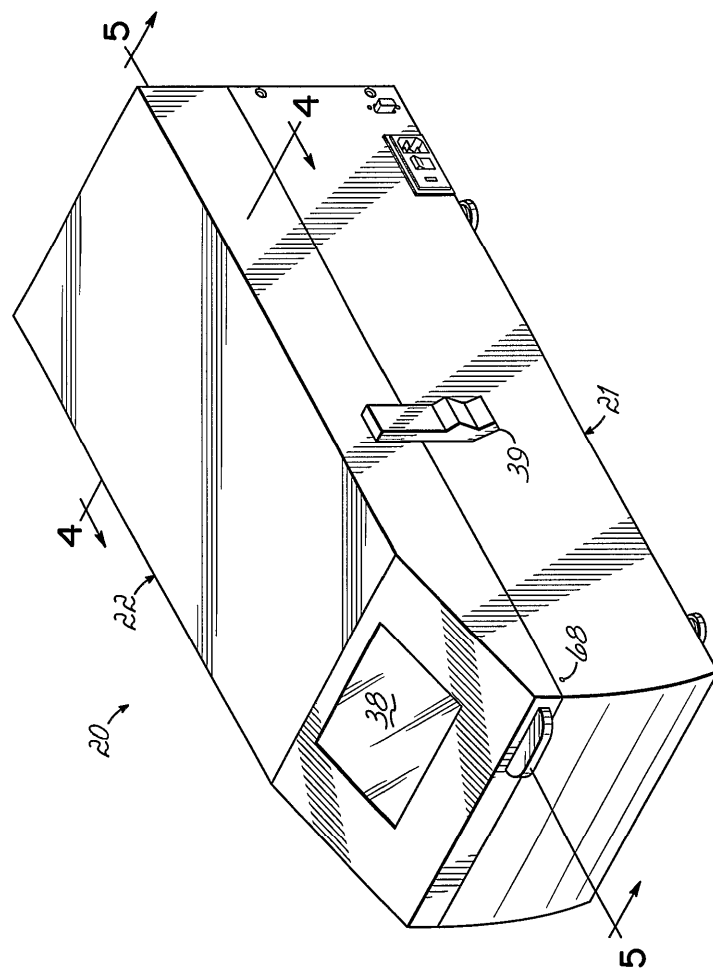


FIG. 1

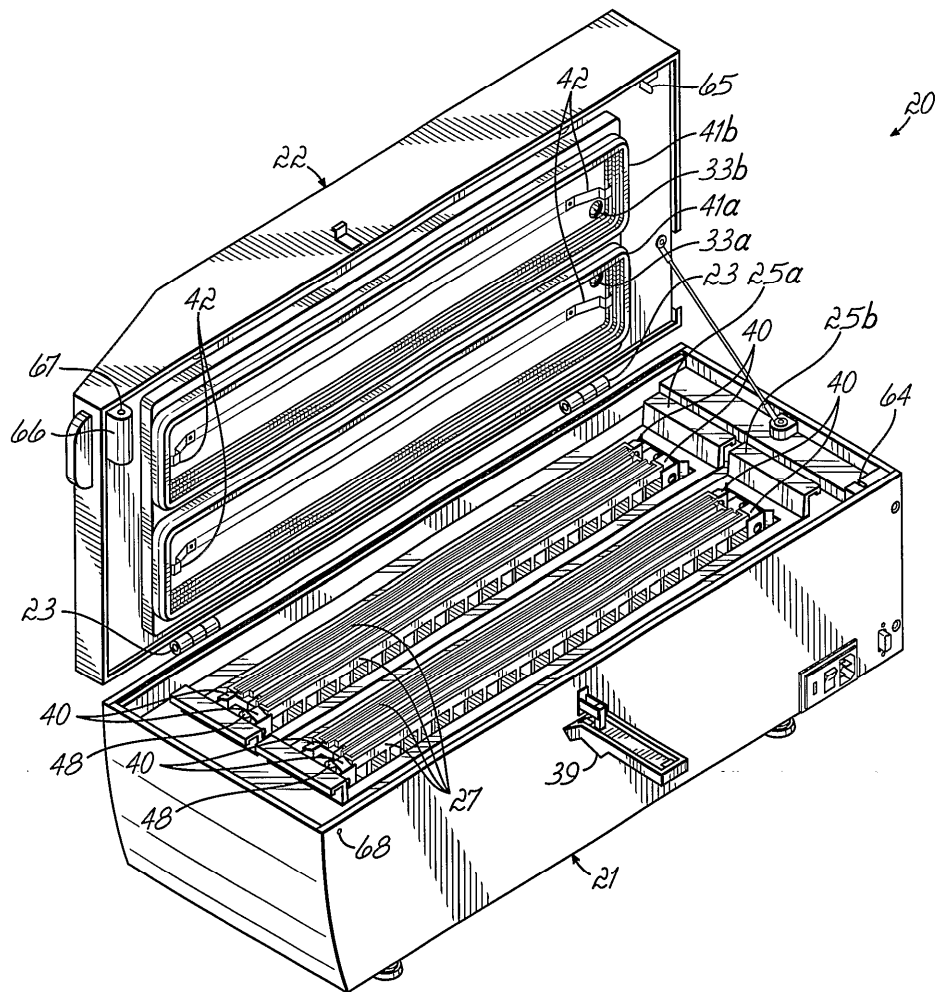
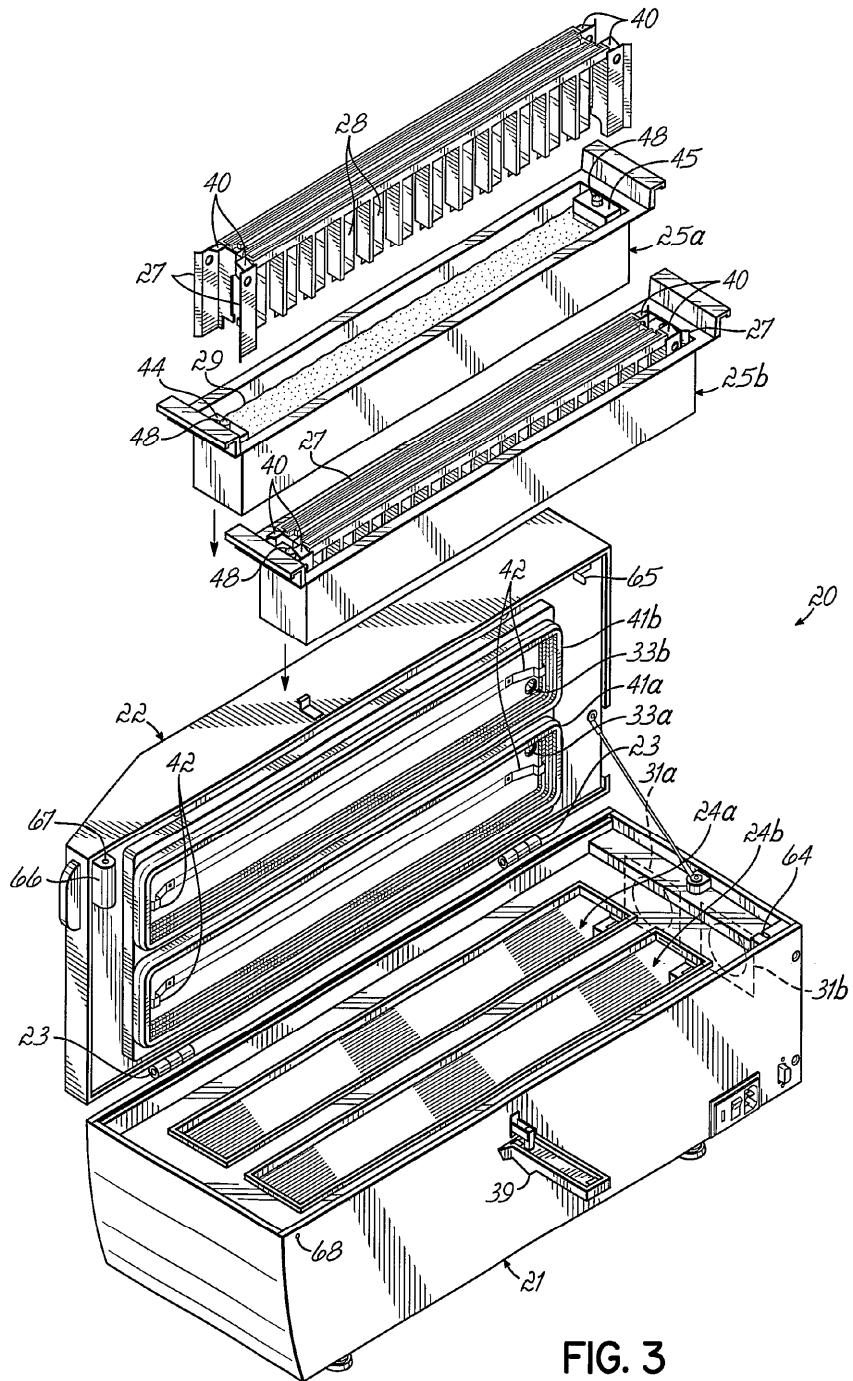


FIG. 2



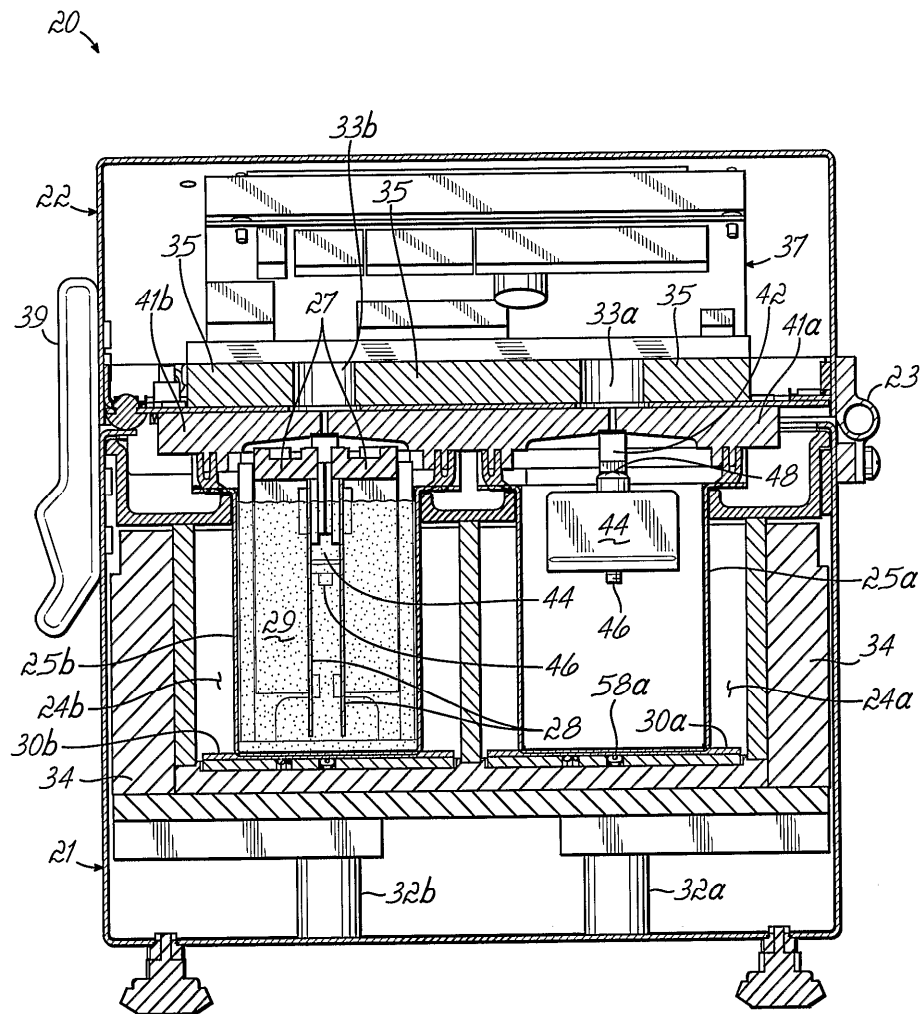


FIG. 4

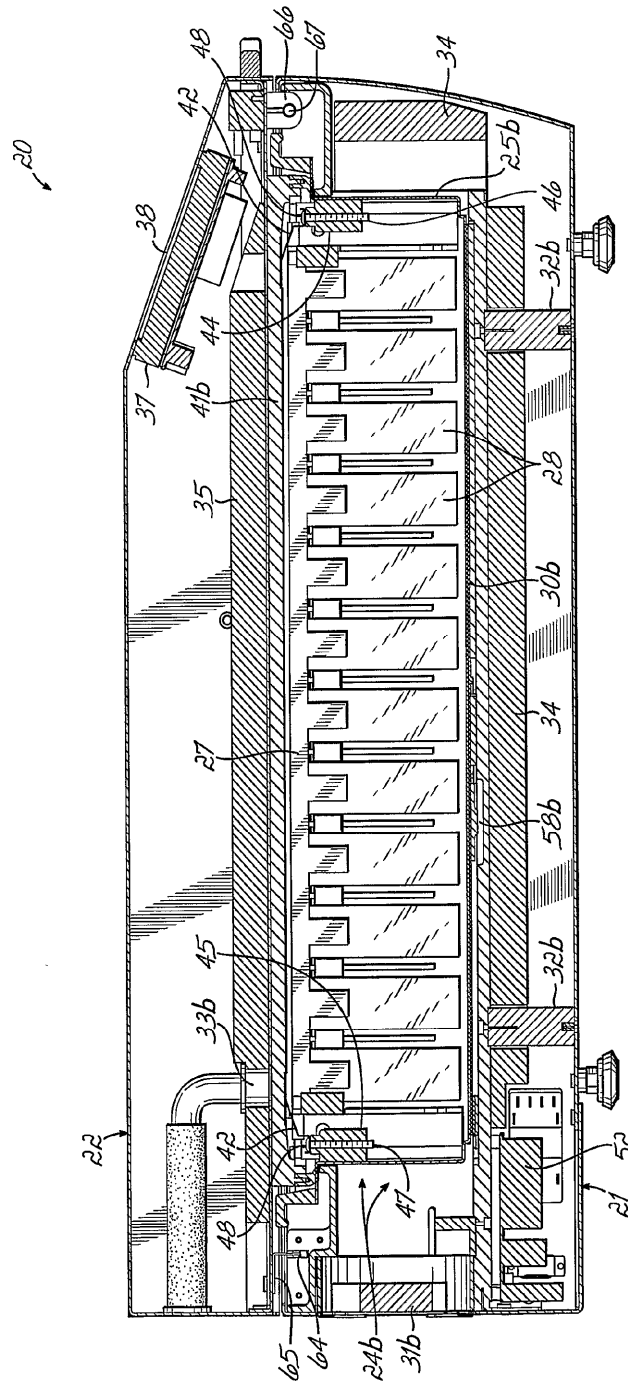


FIG. 5

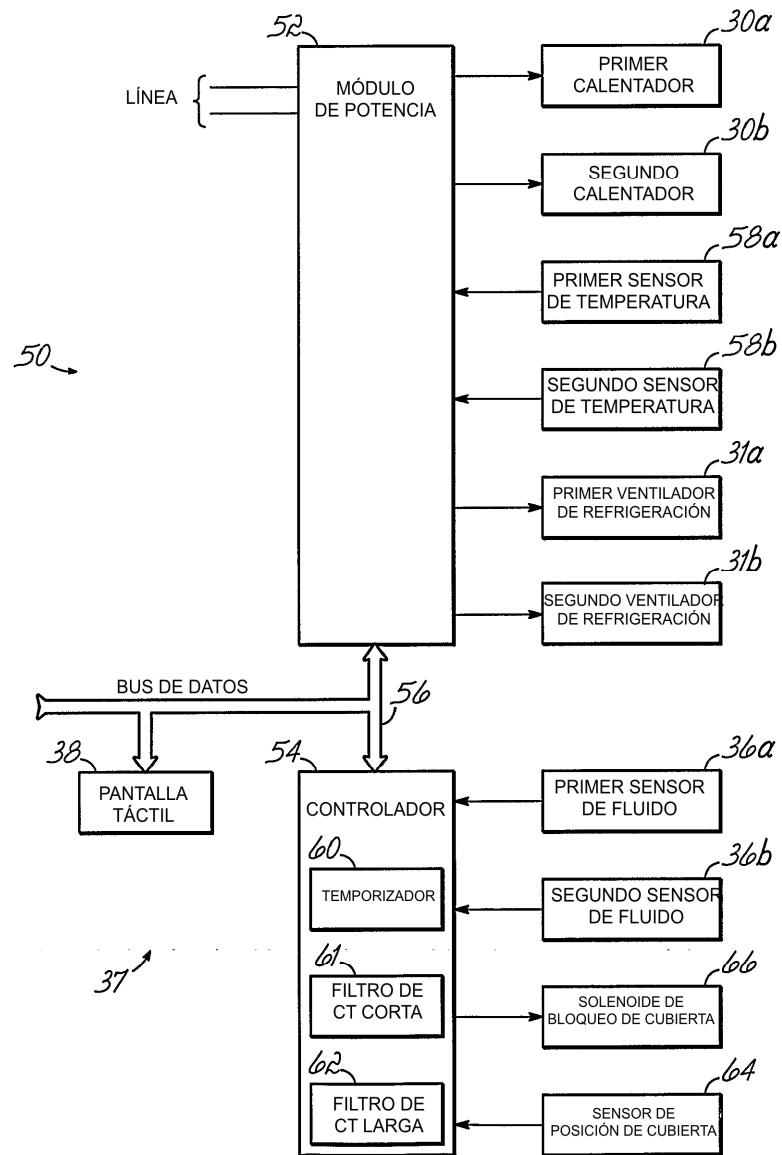


FIG. 6

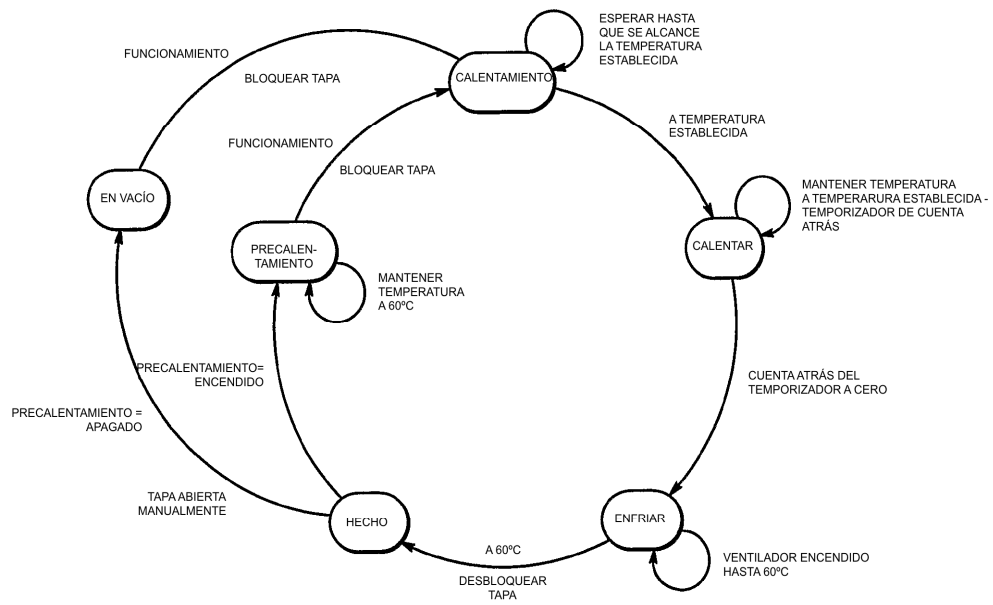


FIG. 7