

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 674 944**

51 Int. Cl.:

**B01L 7/00** (2006.01)

**B01L 3/00** (2006.01)

**C12P 19/34** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.12.2014 PCT/EP2014/076158**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.06.2015 WO15086365**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.12.2014 E 14805606 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.04.2018 EP 3079824**

54 Título: **Un termociclador con una unidad de análisis y/o de verificación de la temperatura y un método para analizar o verificar un rendimiento térmico de un termociclador y para calibrar el termociclador**

30 Prioridad:  
**12.12.2013 EP 13196781**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**05.07.2018**

73 Titular/es:  
**HAIN LIFESCIENCE GMBH (100.0%)  
Hardwiesenstrasse 1  
72147 Nehren, DE**

72 Inventor/es:  
**COURTNEY, JAMES**

74 Agente/Representante:  
**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 674 944 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

Un termociclador con una unidad de análisis y/o de verificación de la temperatura y un método para analizar o verificar un rendimiento térmico de un termociclador y para calibrar el termociclador

5 Esta invención se refiere a termocicladores. Específicamente, la presente invención se dirige a un termociclador que tiene una unidad de análisis y/o de verificación de la temperatura de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1, La presente invención se dirige además a un método para analizar o verificar un rendimiento térmico de un termociclador y para calibrar el termociclador de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 12. Además, la presente invención se refiere a un uso del termociclador y el método de acuerdo con la reivindicación 15,

## Estado de la técnica

15 Un termociclador (también conocido como ciclador térmico, máquina de PCR o amplificador de ADN) es un aparato de laboratorio usado de manera muy habitual para amplificar los segmentos de ADN por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que ahora es un área común en Biología Molecular, tanto en los sectores de Investigación como de Diagnóstico. Sin embargo, los termocicladores también se pueden usar en laboratorios para facilitar otras reacciones sensibles a la temperatura, incluyendo pero sin limitación la digestión de enzimas de restricción o diagnóstico rápido. Los termocicladores están equipados generalmente por un bloque térmico que tiene una matriz de pocillos u orificios de muestra donde se insertan los tubos u otros recipientes que soportan las muestras de ensayo. Los termocicladores de calidad a menudo contienen bloques de plata para alcanzar cambios de temperatura rápidos y temperatura uniforme por todo el bloque. Después de la inserción de los recipientes en los pocillos u orificios de muestra la temperatura del bloque térmico se aumenta y reduce en etapas preprogramadas discretas para calentar y enfriar alternativamente las muestras de ensayo durante los ciclos de la PCR. En el caso de un termociclador de bajo rendimiento donde la temperatura del bloque térmico no es uniforme o donde el bloque térmico no se calienta o enfría de acuerdo con una curva de temperatura objetivo exacta predeterminada existe un potencial de, por ejemplo, proporcionar resultados de la PCR falsos negativos.

30 Para asegurar un rendimiento térmico preciso de los termocicladores, es decir, uniformidad térmica del bloque térmico o uniformidad pocillo a pocillo, precisión de la temperatura, velocidades de calentamiento y enfriamiento, exceso de temperatura y ritmo, es necesario analizar o verificar estos parámetros y eventualmente calibrar los termocicladores en el caso de un rendimiento térmico bajo.

Actualmente existen tres posibles alternativas disponibles para el usuario para el análisis o verificación del rendimiento térmico del termociclador:

## 1. Contrato de servicio del fabricante

40 En este documento los usuarios optan por un acuerdo de servicio con el fabricante real del termociclador. Un ingeniero de pruebas del fabricante visita a los usuarios y realiza una prueba de verificación *in situ*.

Aunque el coste real de este ejercicio es a menudo difícil de determinar, porque está normalmente incluido en el precio de compra del termociclador, puede ser caro. Los costes deberían considerarse en una base caso por caso.

45 Normalmente, los fabricantes recomiendan realizar esta prueba en una base anual, una frecuencia de verificación normalmente no acorde con la mayoría de los requisitos de control de calidad debido a que el rendimiento del termociclador puede empezar a degradarse inmediatamente después de la comprobación *in situ*.

50 Incluso eventualmente es posible un calibrado del termociclador y se pueden realizar ajustes en la temperatura si se requiere, ya que el ingeniero de pruebas del fabricante tiene un profundo conocimiento de los termocicladores del fabricante, existen algunos inconvenientes asociados con los contratos de servicio del fabricante:

55 Cuando la verificación *in situ* se realiza por un ingeniero de pruebas externo/visitante la prueba debe estar bien organizada ya que todos los termocicladores del fabricante *in situ* deben estar disponibles para la verificación dentro de un periodo determinado. Durante este periodo, los termocicladores no están disponibles para la PCR.

A menudo, los contratos de verificación *in situ* son solo comercialmente adecuados para lugares que tienen muchos termocicladores por probar ya que los costes de tener una visita de un ingeniero para verificar solo uno o pocos termocicladores resultarán normalmente prohibitivos.

60 El mantenimiento de un registro de historial de cada termociclador es muy difícil. Dicho registro de historial normalmente implicará una comparación manual de informes de pruebas basados en texto, en los que los propios usuarios tienen que recopilar los datos pertinentes y después tienen que introducir los datos manualmente en un programa de tipo hoja de cálculo para su comparación.

65 2. Verificación usando un equipo de pruebas comprado

En este caso, los usuarios compran una pieza del equipo exclusivo de pruebas de temperatura y realizan las pruebas ellos mismos. Naturalmente, existe un gasto financiero significativo requerido con este enfoque, particularmente cuando se considera la gama amplia de equipos de pruebas que pueden requerir la compra para asegurar la compatibilidad con las distintas marcas y modelos de termocicladores que requieren la prueba.

5 A menudo el equipo de pruebas comprado es idéntico a aquel utilizado para la prueba realizada bajo los contratos de servicio del fabricante. Sin embargo, la formación requerida para operar este equipo correctamente, de tal manera que se logren resultados precisos, repetibles y trascendentes, es rara vez asequible. Además, la interpretación de los resultados es a menudo muy subjetiva. Un equipo de pruebas típico se diseña para operarse por personal formado - requiriendo a menudo unas habilidades específicas para obtener resultados de prueba satisfactorios y válidos.

15 Los límites de éxito/fracaso normalmente no están provistos con el equipo de prueba ya que esto provoca fricción entre el fabricante, el proveedor del equipo de prueba y el usuario. De qué manera puede lograr un usuario los mismos resultados de prueba que aquellos que logra el fabricante en un entorno totalmente controlado con su propio equipo de prueba diferente y dedicado.

20 Por otra parte, los fabricantes son reacios en el mejor de los casos a transmitir los detalles de los procedimientos de prueba, haciendo la comparación con respecto a las especificaciones publicadas casi imposible. Cuando los límites de éxito/fracaso del rendimiento térmico están disponibles, entonces tienden a ser suministrados en forma de "límites de campo" de tolerancia más amplia. Estos límites llevan naturalmente a confusión ya que son diferentes de las especificaciones publicadas en todos los casos.

25 Se cuestiona ahora el problema de cómo realizar la prueba; inconsistencias en los protocolos de prueba, aparato y metodología son variables que pueden desviar los resultados.

La selección y compra del equipo de prueba correcto es un problema, a veces la configuración de un "sistema de prueba correcto" puede ser extremadamente difícil.

30 A menudo los sistemas disponibles para la compra son particularmente complejos en cuanto a su operación, teniendo que satisfacer muchas marcas y modelos diferentes.

35 Aunque este método permite al usuario realizar una prueba térmica en los termocicladores, en caso de discrepancia, a menudo su calibrado no es posible. En caso de requerir calibrado, la discrepancia debe ser transmitida al fabricante. El fabricante tiene que confirmar después los resultados, un proceso que a menudo provoca fricción con respecto a la especificación publicada, etc. y después un ingeniero tiene que visitar el lugar o el termociclador en cuestión tiene que ser devuelto al fabricante para su calibrado.

40 A menudo el usuario no tiene más alternativa que simplemente dejar el termociclador sin ajustar, a pesar de saber que su rendimiento térmico es bajo.

45 El mantenimiento de un registro de historial de la unidad es nuevamente muy difícil; esto implicará normalmente una comparación manual de los informes de pruebas basados en texto, en los que los propios usuarios tienen que recopilar los datos pertinentes y después tienen que introducir los datos manualmente en un programa de tipo hoja de cálculo para su comparación.

### 3. Uso de una empresa de mantenimiento de termocicladores

50 En este caso, los usuarios pueden contratar el servicio de una verificación del termociclador a una empresa de mantenimiento de termocicladores como tercera parte especializada en la verificación de la temperatura del termociclador. Así como en el contrato de servicios del fabricante un ingeniero de pruebas visita normalmente al cliente y realiza la prueba de verificación *in situ*. Si el usuario tiene muchas y diferentes marcas y modelos de termocicladores que requieren validación, esta solución no ofrece ventajas en los costes puesto que tiene poco sentido que el usuario compre todas las diferentes variedades del equipo de prueba que están disponibles.

55 Las empresas de mantenimiento de termocicladores generalmente ofrecen una verificación más detallada del rendimiento térmico en comparación con aquel provisto como parte de un contrato de servicio del fabricante. Sin embargo, el equipo de prueba usado no está necesariamente bien adaptado al termociclador específico que está siendo evaluado y los fabricantes ignorarán cualquier dato de prueba proveniente de una fuente no aprobada.

60 Además, las empresas de mantenimiento de termocicladores utilizan generalmente el equipo de prueba que está disponible para la compra por el usuario final. Por lo tanto, se aplican las mismas limitaciones en cuanto a la validación usando el equipo de prueba comprado.

65 En el caso inusual de que la empresa de mantenimiento tenga los conocimientos técnicos para recalibrar el termociclador sigue sucediendo de que en la mayoría de casos este proceso invalidará cualquier garantía sobre el instrumento.

El mantenimiento de un registro de historial de la unidad es nuevamente muy difícil; esto implicará normalmente una comparación manual de los informes de pruebas basados en texto, en los que los propios usuarios tienen que recopilar los datos pertinentes y después tienen que introducir los datos manualmente en un programa de tipo hoja de cálculo para su comparación.

5 Por lo tanto, ninguno de los métodos citados anteriormente proporciona una solución totalmente satisfactoria para el usuario.

10 El equipo de prueba externo usado en los métodos citados anteriormente generalmente está en la forma de una unidad de análisis y/o de verificación de la temperatura que comprende una placa de sondas de temperatura con una pluralidad de sondas de temperatura y comprende además una unidad de control externo separada que comunica con las sondas de temperatura de la placa de sondas y está equipada con un suministro de energía, un procesador para controlar el análisis de temperatura y/o un proceso de verificación así como una memoria y un monitor para almacenar o presentar los resultados de la prueba respectivamente.

15 **Descripción detallada de la invención**

Es por lo tanto un objetivo de la presente invención el hecho de proporcionar un termociclador y un método para verificar un rendimiento térmico de un termociclador y para calibrar el termociclador que evitará o al menos mejorará los inconvenientes anteriormente mencionados.

20 Para lograr estos objetivos la presente invención proporciona un termociclador de acuerdo con la reivindicación 1 y un método para verificar un rendimiento térmico de un termociclador y para calibrar el termociclador de acuerdo con la reivindicación 10. Además la presente invención proporciona el uso de dicho termociclador y/o método para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

25 El termociclador y método de acuerdo con la invención proporciona las siguientes ventajas:

- 30 - Verificación de la temperatura: La unidad de análisis y/o de verificación de la temperatura no solo proporciona la validación, es decir, que el termociclador es operacional, sino también la verificación, es decir, que las temperaturas alcanzadas en los pocillos de las muestras son conformes con la especificación.
- Autocalibrado: Los resultados generados por la unidad integrada de análisis y/o de verificación de la temperatura pueden usarse directamente para verificar el rendimiento térmico del termociclador y, si fuera necesario, para permitir que el termociclador se autocalibre automáticamente.
- 35 - Frecuencia de la prueba: Los análisis y/o la verificación del rendimiento térmico del bloque térmico se pueden realizar con la frecuencia deseada sin costes adicionales. Las pruebas anuales se pueden sustituir con comprobaciones semanales o incluso diarias.
- Funcionalidad: La unidad integrada de análisis y/o de verificación de la temperatura se diseña específicamente para el uso con un termociclador específico y puede adaptarse fácilmente a diferentes diseños de bloque térmico usados en el termociclador. El termociclador puede tener un diseño a medida simple, en el que no se requiere formación formal para la operación a toda prueba.
- 40 - El sistema de verificación de la unidad integrada de análisis y/o verificación de la temperatura se puede hacer idéntico a la unidad de análisis y/o verificación de la temperatura que se usa para el control de la calidad en el fabricante que asegura que los datos son directamente comparables. El procedimiento de calibrado puede también hacerse idéntico al procedimiento de calibrado usado por el fabricante para el control de la calidad de manera que los límites de éxito/fracaso son similarmente idénticos.
- 45 - El termociclador mismo mantiene su propio historial que permite un análisis de monitorización/tendencia de duración automático de todos los valores de rendimiento térmico claves, todos los resultados estando almacenados a bordo electrónicamente en una memoria del control electrónico del termociclador o en una memoria de la unidad integrada de análisis y verificación de la temperatura. No se requiere ninguna interpretación manual por el usuario ya que los resultados pueden ser recuperados o indicados electrónicamente sobre un monitor del termociclador bajo petición.
- 50 - El nivel de validación térmica es totalmente controlable por el usuario, variando desde "comprobaciones de salud" rápidas hasta análisis plenamente detallados en profundidad.
- 55 - El usuario puede establecer un valor inicial, o bien temperaturas de PCR típicas o bien temperaturas que son de interés particular para el usuario, y la variación a partir de la cual se puede analizar cuando se requiera. Esto permite al usuario reconocer al instante cualquier desviación en el rendimiento que se aleje de la norma.

60 En comparación con un contrato de mantenimiento del fabricante en el que un ingeniero de pruebas del fabricante realiza pruebas de verificación de la temperatura *in situ* no hay necesidad de organizar exhaustivamente las pruebas ya que se pueden realizar cuando surja cualquier necesidad y se puede realizar independientemente para cada termociclador de manera que se puede evitar la inactividad de un gran número de termocicladores.

65 En comparación con la verificación usando el equipo de pruebas comprado una unidad integrada de verificación y calibrado de la temperatura siempre se personalizará o se hará a medida para el termociclador con el cual se utilice. Si fuera necesario, la formación requerida para operar la verificación de la temperatura integrada de una manera que

alcanzará resultados precisos, repetibles y trascendentes, la proporcionará el fabricante del termociclador junto con la formación para operar el termociclador mismo. Por lo tanto, no habrá dudas sobre cómo realizar la prueba y cómo adaptar el equipo de prueba a un termociclador particular. Esto dará generalmente resultados de prueba satisfactorios y válidos sin inconsistencias en los protocolos de prueba.

5 En comparación con el uso de una empresa de mantenimiento del termociclador el equipo de prueba usado es perfectamente adecuado para un termociclador específico que esté siendo probado debido a que se ha desarrollado y se ha sometido a un control de calidad junto con ese termociclador específico. Debido al hecho de que la integración de la unidad de verificación y/o calibrado de la temperatura en el termociclador se realizará generalmente durante la fabricación del termociclador cualquier dato de la prueba procedente de una fuente aprobada por el fabricante y calibrado no invalidará cualquier garantía sobre el instrumento.

Probablemente lo más importante en comparación es la capacidad de autocalibrado que no es posible en ninguna de las tres alternativas disponibles actualmente.

15 De acuerdo con una realización preferida de la invención, la unidad integrada de análisis y/o verificación de la temperatura comprende una placa de sondas de temperatura que tiene una pluralidad de sondas de temperatura para medir la temperatura dentro de los pocillos de muestra seleccionados. Dichas placas de sondas de temperatura ya han demostrado que son fiables en el equipo de prueba exterior usado para la verificación del rendimiento térmico de los termocicladores. Preferentemente la unidad de análisis y/o verificación de la temperatura comprende un control de ciclo cerrado para el calibrado del medio calentador eléctrico dependiendo de la temperatura medida por las sondas de temperatura dentro de los pocillos de prueba seleccionados.

25 Cuando no se encuentran en uso, es decir, durante la operación normal o inactividad del termociclador, la placa de sondas de temperatura almacenada en el termociclador mismo y de la manera más preferente adaptada dentro de un compartimento de almacenaje desde el cual se puede y colocar sobre el bloque térmico para realizar un análisis y/o verificación de la temperatura, cuando se requiera. La abertura del compartimento de almacenaje se sitúa de manera ventajosa en la parte superior del alojamiento próxima al bloque térmico y los pocillos de muestra para fácil acceso a la placa de sonda, cuando se requiera.

30 De acuerdo con una primera alternativa, las sondas de temperatura se fijan a la placa de sondas de temperatura de manera que se asocian siempre con pocillos de muestra específicos. De acuerdo con una segunda alternativa, las sondas de temperatura son sondas variables que son intercambiables y pueden unirse de manera selectiva a diferentes tomas de la placa de sondas de temperatura de manera que se pueden usar para verificar o calibrar distintos pocillos de muestra. Esto es ventajoso para abordar requisitos específicos, por ejemplo un análisis de gradiente térmico detallado o una verificación o calibrado de un área específica de los pocillos de la muestra que está produciendo un rendimiento atípico. La última alternativa también proporciona dimensiones de bloque o de pocillo no estándar o la unión de sondas con plomo a las tomas de la placa de sondas de temperatura.

40 De acuerdo con una realización de la invención adicional preferida todas las sondas de temperatura llevan su propia identidad única que se reconoce automáticamente mediante el software en la unidad de análisis y/o verificación del rendimiento térmico. Esto asegurará la integridad de los datos de temperatura desde una prueba hasta la siguiente, independientemente de la posición de la sonda de temperatura sobre la placa de sondas o en uno de los pocillos de muestra respectivamente. La placa de sondas de temperatura se conecta a la interfaz interna acoplando contactos eléctricos o mediante una conexión eléctrica por enchufe cuando la placa de sondas de temperatura se sitúa sobre el bloque térmico. La conexión eléctrica se puede desconectar para la retirada de la placa de sondas de temperatura desde el termociclador de manera que la placa de sondas de temperatura se puede calibrar bajo petición externamente y por separado desde el termociclador.

50 Preferentemente el termociclador tiene una tapa caliente que se puede cerrar. En el estado cerrado la tapa caliente presiona contra las tapas de los recipientes de reacción o de muestra y previene la condensación del agua que se ha evaporado de las mezclas de reacción o muestras de prueba en los interiores de las tapas.

55 De acuerdo con otra realización de la invención, la interfaz interna del termociclador se conecta a la placa de sondas mediante un cable que se extiende desde el compartimento de almacenaje de manera que la placa de sondas se puede mantener conectada al termociclador cuando está dentro del compartimento de almacenaje.

60 Para mantener la huella del termociclador lo más pequeña posible el compartimento de almacenaje preferentemente tiene una forma de tipo ranura para insertar un lado estrecho de la placa de sondas en una abertura del compartimento mientras que las sondas de temperatura preferentemente sobresalen desde un lado ancho de la placa de sondas como con las placas de sondas de temperatura convencionales. Para evitar daños la prevención de las sondas de temperatura sobresalientes durante la inserción o la retirada de la placa de sondas en/desde el compartimento de almacenaje, el último preferentemente comprende medios de guiado para guiar la placa de sondas durante la inserción y la retirada.

65

De acuerdo con otra realización de la invención preferida, la unidad de análisis y/o verificación de la temperatura se conecta a un monitor sobre el alojamiento mediante la interfaz interna. De esta manera, el monitor del termociclador se puede usar para presentar los resultados de las pruebas desde la unidad de análisis y/o verificación de la temperatura, todos valores de rendimiento térmico claves o análisis de tendencias sin necesidad de un monitor externo. Además el monitor permite una comparación visual del rendimiento térmico del termociclador de prueba a prueba. Preferentemente el monitor es un monitor de pantalla táctil que se puede usar para iniciar el proceso de análisis y verificación de la temperatura y/o el proceso de autocalibrado.

De acuerdo con otra realización preferida del método de la invención, la unidad de análisis y/o verificación comprende una placa de sondas de temperatura que tiene una pluralidad de sondas de temperatura que mide las temperaturas dentro de los pocillos de muestra de un bloque térmico del termociclador y en las siguientes etapas de desconexión de una conexión eléctrica entre la placa de sondas de temperatura y el termociclador y retirada de la placa de sondas de temperatura desde el termociclador para un calibrado externo independiente de la placa de sondas de temperatura. La unidad integrada de análisis y/o verificación comprende una placa de sondas de temperatura que tiene una pluralidad de sondas de temperatura para medir el rendimiento térmico dentro de los pocillos de muestra seleccionados, en donde las sondas de temperatura comunican los valores de temperatura al control electrónico mediante una interfaz del termociclador y en donde el control electrónico compara los valores de temperatura desde las sondas de temperatura con valores de temperatura objetivo y comienza un proceso de autocalibrado del termociclador cuando se requiere. Preferentemente, el proceso de autocalibrado del termociclador está en forma de un proceso de ciclo cerrado que usa los valores de temperatura comunicados por las sondas de temperatura de la unidad de análisis y/o verificación de la temperatura para la modificación del rendimiento del medio calentador eléctrico.

La presente invención se ilustra haciendo referencia a las figuras de los dibujos, que comprenden distintas vistas de dos realizaciones de la invención, en donde:

La Fig. 1 es un diagrama de bloques esquemático de los componentes principales de un termociclador que tiene una unidad integrada de verificación y/o calibrado de la temperatura de acuerdo con la invención;

La Fig. 2 es una vista en perspectiva de una realización preferida de un termociclador de acuerdo con la invención con una placa de sondas de temperatura de la unidad de verificación y/o calibrado de la temperatura en un compartimento de almacenaje del termociclador;

La Fig. 3 es una vista en perspectiva de la realización durante la retirada de la placa de sondas de temperatura desde el compartimento de almacenaje;

La Fig. 4 es una vista en perspectiva de la realización con la placa de sondas de temperatura en su posición de uso;

La Fig. 4a es una vista detallada de una porción de la Fig. 4;

La Fig. 5 es una vista superior ampliada del compartimento de almacenaje durante la retirada de la placa de sondas de temperatura como se muestra en la Fig. 3;

La Fig. 6 es una vista superior ampliada del compartimento de almacenaje sin la placa de sondas de temperatura;

La Fig. 7 es una vista en perspectiva de una sonda de temperatura de la placa de sondas de temperatura;

La Fig. 8 es una vista de una pantalla del termociclador después del inicio de un software de verificación y calibrado de la temperatura de la unidad de verificación y/o calibrado de la temperatura del termociclador;

La Fig. 9 es una vista de la pantalla después de la terminación de una prueba de verificación de la temperatura llevada a cabo por la unidad de verificación y/o calibrado de la temperatura del termociclador;

La Fig. 10 es una vista de la pantalla cuando se presenta la uniformidad térmica de un bloque térmico del termociclador con respecto a la fecha de la prueba;

La Fig. 11 es una vista en perspectiva de una segunda realización durante la retirada de la placa de sondas de temperatura desde el compartimento de almacenaje.

El termociclador 10 representado en los dibujos se usa para amplificar los segmentos de ADN por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Como se muestra esquemáticamente en la Fig. 1 el termociclador 10 comprende un alojamiento 12 que acomoda un bloque térmico 14, una tapa caliente pivotante 16, cada uno comprendiendo un calentador eléctrico 18, 20, un control electrónico 22 para controlar los calentadores eléctricos 18, 20 del bloque térmico 14 y de la tapa caliente 16, un suministro de energía 24, que se conecta a los calentadores eléctricos 18, 20 a través del control electrónico 22, un ordenador monopla y una interfaz gráfica 26, que está conectada al control electrónico 22 y al suministro de energía 24 y una unidad integrada de análisis y/o verificación de la temperatura 28, que está conectada a la interfaz 26. Como se representa en las Figuras 2 a 4 del dibujo en un frontal del alojamiento 12 el termociclador 10 comprende además un monitor en forma de una pantalla táctil intuitiva 30 con función arrastrar y soltar que está conectada al control electrónico 22, el suministro de energía 24 y la interfaz interna 26. El termociclador comprende además un puerto USB (no mostrado) que está conectado a la interfaz 26 y facilita el almacenamiento de programas desde una memoria extraíble USB en una memoria del control electrónico.

El bloque térmico 14 está provisto de una matriz de orificios verticales o pocillos de muestra 32 como se puede ver mejor en las Figuras 2 y 3. Los pocillos de muestra 32 están dispuestos para recibir tubos de muestra o de reacción de 0,2 ml (no mostrados) o una placa de PCR de 96 pocillos (no mostrada) que contiene muestras de ensayo o

mezclas de reacción para ser sometidas a ensayo. El bloque térmico 14 es extraíble de manera que otros tipos de bloques, por ejemplo, con trescientos ochenta y ocho pocillos, se pueden ajustar, si se requiere.

El calentador eléctrico 18 del bloque térmico 14 comprende ocho elementos Peltier (no mostrados) que aseguran una concordancia exacta entre la temperatura real del bloque térmico 14 y una temperatura objetivo que se proporciona operando el software almacenado en la memoria del control electrónico 22. El software controla la temperatura del bloque térmico 14 que se aumenta y reduce en etapas preprogramadas discretas para calentar y enfriar alternativamente las muestras de ensayo en los pocillos de muestra 32 durante los ciclos de la PCR. El bloque térmico 14 está además provisto de cuatro sensores de control de la temperatura (no mostrados) para medir la temperatura real del bloque térmico 14. Los sensores de control de la temperatura se conectan con el control electrónico 22.

Para evitar cualquier discrepancia o una deriva térmica entre la temperatura real medida por los sensores de control de la temperatura y la temperatura real dentro de los pocillos de muestra 32 la temperatura dentro de los pocillos de muestra 32 especificados se puede analizar o verificar con la ayuda de la unidad integrada de análisis y/o verificación de la temperatura 28. La unidad de análisis y/o verificación de la temperatura 28 se usa para realizar una validación y una verificación del rendimiento de la temperatura del bloque térmico 14 de una manera que es totalmente independiente del control de la temperatura del bloque térmico 14 y otros componentes calientes del termociclador, como la tapa caliente 16.

Para ello, la unidad integrada de análisis y/o verificación de la temperatura 28 comprende una placa de sondas de temperatura 34 que tiene una pluralidad de sondas de temperatura 36 y un sistema electrónico u ordenador de control integrado (no mostrado) que puede estar o bien dentro del alojamiento 12 del termociclador 10 o bien dentro de la placa de sondas de temperatura 34 misma. En el primer caso, la placa de sondas de temperatura 34 se conecta eléctricamente al sistema electrónico de control u ordenador integrado a través de la interfaz interna 26. En el segundo caso, el sistema electrónico de control u ordenador integrado dentro de la placa de sondas de temperatura 34 se conecta al control electrónico 22 y al suministro de energía 24 a través de la interfaz interna 26, de tal manera que la placa de sondas de temperatura 34 es independiente, es decir, solo requiere alimentación eléctrica. La conexión eléctrica puede ser o bien temporal a través de los contactos eléctricos 37, 39 o bien una conexión por enchufe cuando la placa de sondas de temperatura 34 está situada sobre el bloque térmico 14, como se muestra en las Figuras 2 a 4, de manera que la placa de sondas de temperatura 34 se puede completar del termociclador 10, por ejemplo, para calibrado externo. Alternativamente, la conexión eléctrica puede ser permanente a través de un cable 38, como se muestra en la Fig. 11.

La placa de sondas de temperatura 34 tiene una forma rectangular con dos lados anchos opuestos 40, 42 y cuatro lados estrechos. Las dimensiones de los lados anchos 40, 42 esencialmente se amoldan a las dimensiones horizontales del bloque térmico 14, Las sondas de temperatura 36 sobresalen desde uno 42 de los dos lados anchos 40, 42 de la placa de sondas de temperatura 34, La localización y tamaños de las sondas de temperatura 36 se amoldan a la localización y tamaño de los pocillos de muestra 32 de tal manera que se ajustan dentro de los pocillos de muestra cuando placa de sondas de temperatura 34 se coloca sobre el bloque térmico 14, como se muestra en la Fig. 4.

Las sondas de temperatura 36 son para detectar la temperatura dentro de los pocillos de muestra 32, Como se puede observar en la Fig. 7, las sondas de temperatura 36 consisten esencialmente en una punta de sonda cónica 46, un cuerpo de sonda cilíndrico 48 y un enchufe 50 al final del cuerpo 48 que está opuesto a la punta de sonda 46, La punta de sonda 46 está compuesta por material termoconductor, conformado para adaptarse al perfil del pocillo en el fondo de los pocillos de muestra 32, en el lugar donde se localiza la muestra de ensayo o mezcla de reacción para ser sometida a ensayo durante la operación normal del termociclador 10, y aloja un sensor de temperatura (no mostrado) que se conecta eléctricamente a través del cuerpo de sonda 48 y el enchufe 50 a unos circuitos dentro de la placa de sondas de temperatura 34, El cuerpo de sonda 48 está compuesto por un material termoaislante y está diseñado para colocar con precisión la punta de sonda 46 en el fondo del pocillo de muestra 32 sin extraer por drenaje el calor, lo que lograría la medición de la temperatura del sensor de temperatura dentro de la punta de sonda 46.

En las realizaciones representadas en los dibujos, las sondas de temperatura 36 se fijan a la placa de sondas de temperatura 34, de tal manera que son inmóviles con respecto a la placa de sondas de temperatura 34 y están siempre asociadas con pocillos de muestra 32 específicos. Preferentemente, hay ocho sondas de temperatura 36, que se consideran un número adecuado de sondas para dar una cobertura adecuada del bloque térmico 14 para obtener una medición representativa de su uniformidad térmica.

Sin embargo, se puede contemplar la provisión de la placa de sondas de temperatura 34 con una gran cantidad de tomas (no mostradas) sobre el lado ancho 42, de tal manera que el enchufe 50 de cada sonda de temperatura 36 se pueda unir opcionalmente a una de las tomas arbitraria. De esta manera, las sondas de temperatura 36 son intercambiables y se pueden localizar en diferentes pocillos de muestra 32.

Si se requiere, se pueden añadir sondas de temperatura 35 adicionales y conformadas de forma diferente al lado opuesto ancho 40 de la placa de sondas de temperatura 34 para permitir la medición de la temperatura de la punta caliente 16.

5 La placa de sondas de temperatura 34 es una pieza calibrada del equipo de ensayo, identificable por las normas nacionales, y se conoce por ser precisa como tal. Debido al hecho de que la placa de sondas de temperatura 34 es completamente extraíble del termociclador 10 se puede calibrar o verificar por sí misma, independientemente del termociclador 10.

10 El sistema electrónico de control u ordenadores integrados de la unidad de análisis y/o verificación de la temperatura 28 puede comprender un procesador y memoria separados dentro del alojamiento 12 del termociclador 10 o dentro de la placa de sondas de temperatura 34. Preferentemente, el sistema electrónico u ordenador integrado está dentro de la placa de sondas de temperatura 34. El sistema electrónico u ordenador integrado puede ser también una parte del control electrónico 22 que comparte su procesador y memoria con el ordenador integrado. El ordenador  
15 integrado se usa para realizar los procesos de análisis o verificación de la temperatura, por ejemplo, para procesar las mediciones de la temperatura, y, en cooperación con el control electrónico 22, los procesos de autocalibrado del termociclador 10. A tal fin, el software de análisis/verificación de la temperatura y de autocalibrado se almacena en una memoria del ordenador integrado o en la memoria compartida.

20 En las realizaciones preferidas en las Figuras 2 a 4 la conexión eléctrica entre la placa de sondas de temperatura 34 y la interfaz 26 se hace por medio de una pluralidad de zonas de contacto eléctrico o protrusiones 37 sobre el lado ancho 40 de la placa de sondas de temperatura 34 y una pluralidad de zonas de contacto correspondientes 39 sobre un lado inferior 41 de la tapa caliente 16 sobre el bloque caliente 14. Las zonas de contacto 37 y 39  
25 respectivamente, están dispuestas en la misma distancia desde un eje de pivotamiento de la tapa caliente 16 de tal manera que pueden presionarse unas contra otras y están en contacto eléctrico cuando la placa de sondas de temperatura 34 está localizada sobre el bloque térmico 14 y cuando la tapa caliente 16 pivota en la parte superior del lado ancho 40 de la placa de sondas de temperatura 34 en su posición cerrada.

30 En la realización en la Fig. 11 la conexión eléctrica se hace por medio del cable plano 38 que tiene un enchufe 44 que puede conectarse a una toma correspondiente en uno de los lados estrechos de la placa de sondas de temperatura 34.

La función de la placa de sondas de temperatura 34 con las sondas de temperatura 36 puede derivarse de las Figuras 2 a 4. En la operación normal del termociclador 10 las muestras de ensayo o mezclas de reacción se cargan  
35 en los pocillos de muestra 32 y la temperatura del bloque térmico 14 se aumenta y reduce en etapas preprogramadas discretas para calentar y enfriar alternativamente las muestras de ensayo o mezclas de reacción. Durante la operación normal, por ejemplo, durante los ciclos de una PCR, la unidad de análisis y/o verificación de la temperatura 28 no está en uso y no se realiza el análisis y/o verificación de la temperatura. Como se representa en la Fig. 2, durante este tiempo, la placa de sondas de temperatura 34 con las sondas de temperatura 36 está en una  
40 posición de almacenaje dentro de un compartimento de almacenaje 52. El compartimento de almacenaje 52 está dispuesto entre el bloque térmico 14 y el monitor o pantalla 30 y es generalmente paralelo a una pared trasera del alojamiento 12. El compartimento de almacenaje 52 tiene la forma de una ranura vertical para recibir la placa de sondas de temperatura 34 en una orientación vertical con uno de los lados estrechos opuestos hacia abajo. Una abertura 54 del extremo superior del compartimento de almacenaje 52 queda a ras con una superficie superior del  
45 alojamiento 12 entre el bloque térmico 14 y el monitor o pantalla 30.

Como se puede observar mejor en las Figuras 5 y 6, la abertura 54 del compartimento de almacenaje 52 se proporciona con una guía para el guiado de la placa de sondas de temperatura 34 durante la inserción en el  
50 compartimento de tipo ranura 52 y durante la retirada del compartimento 52. La guía comprende dos surcos verticales 56 que se localizan en los extremos opuestos de la abertura alargada 54 y del compartimento 52 y que reciben dos de los lados estrechos de la placa de sondas de temperatura 34. Además la guía comprende una cantidad de recortes 58 en una tapa 60 que cubre el compartimento de almacenaje 52 parcialmente. La forma y localización de los recortes 58 conforma la forma y localización de las sondas de temperatura 36 sobre la placa de sondas de temperatura 34 de tal manera que las sondas de temperatura 36 pasarán a través de los recortes 58. La  
55 tapa 60 se proporciona con un recorte 61 adicional para facilitar la retirada de la placa de sondas de temperatura 34 desde la posición de almacenaje. En una realización donde la placa de sondas de temperatura 34 está provista de sondas de temperatura 36 intercambiables, se retirará la tapa 60.

60 En la realización de la Fig. 11, el cable plano 38 se extiende desde las tomas de la placa de sondas de temperatura 34 a través de la abertura 54 hasta el fondo del compartimento 52, donde se conecta a la interfaz 26.

65 Cuando se intenta medir las temperatura reales dentro de los pocillos de muestra 32 para analizar o verificar el rendimiento térmico del termociclador 10, es decir, del bloque térmico 14 y la tapa caliente 16, las muestras de ensayo o mezclas de reacción se retiran de los pocillos de muestra 32 y la placa de sondas de temperatura 34 se retira del compartimento de almacenaje 52 y se colocan sobre el bloque térmico 14 con las sondas de temperatura 36 dentro de los pocillos de muestra 32 especificados, como se muestra en la Fig. 4.



Después de ello, puede comenzar el proceso de análisis o verificación solicitando una rutina de software de análisis/verificación sobre la pantalla táctil 30, como se muestra en la Fig. 8, y tocando el botón ok. Una vez que la prueba está completa, el usuario puede observar instantáneamente en la pantalla 30 si la uniformidad térmica del bloque térmico 14, la precisión de la temperatura, el exceso de temperatura y el ritmo, es decir, el rendimiento térmico del termociclador 10, son satisfactorios, como se muestra en la figura 9. El hecho de que la validación/verificación del rendimiento de temperatura del bloque térmico 14 realizada por la unidad de análisis y/o verificación de la temperatura 28 sea totalmente independiente del control de la temperatura del bloque térmico 14 y de la tapa caliente 16 ayuda a asegurar que los sensores en el bloque térmico 14 funcionan como se pretendía y que el termociclador 10 como conjunto puede alcanzar las especificaciones publicadas. Además de presentar el rendimiento térmico del termociclador 10 sobre su pantalla táctil 30 el termociclador puede ajustar su propio rendimiento dependiendo de los resultados de las mediciones de temperatura tomadas por medio de la placa de sondas de temperatura 34.

Como se muestra de manera ilustrativa en la Fig. 10, para fines de uniformidad térmica, los parámetros del rendimiento térmico se pueden presentar con respecto al tiempo de prueba para visualizar el historial de rendimiento térmico del termociclador 10. Como se puede observar en la Fig. 10, los registros del historial presentados en la pantalla 30 comprenden un valor inicial o barrera umbral 62, de manera que el usuario puede observar fácilmente si cualquier uniformidad térmica, precisión de la temperatura, exceso de temperatura y/o ritmo del termociclador 10 excede el valor inicial o barrera umbral 62 y por lo tanto no cumple los requisitos. Los registros del historial presentados en la pantalla pueden también ser almacenados en una memoria USB por medio de la interfaz 26.

Para comprobar que está funcionando adecuadamente, el termociclador 10 realizará una prueba de control de calidad bajo petición cuando placa de sondas de temperatura 34 se ajuste al termociclador 10. Durante esta prueba de control de calidad el termociclador 10 pasará a través de un programa térmico o de temperatura predeterminado e interrogará simultáneamente la placa de sondas de temperatura 34 por medio de la interfaz 26 para determinar qué temperaturas se alcanzan realmente durante la prueba. A partir de ello, el termociclador compara las mediciones de temperatura reales contra las temperaturas que se establecieron o requirieron por el termociclador 10. Durante esta comparación se puede determinar cualquier imprecisión, es decir, diferencias entre las temperaturas medidas realmente y las temperaturas establecidas.

Para evitar que uno o más de uniformidad térmica, precisión de la temperatura, exceso de temperatura y ritmo exceden el valor inicial asociado o la barrera umbral 62 o para evitar las imprecisiones mencionadas anteriormente, el termociclador 10 conduce un proceso de autocalibrado en intervalos de tiempo regulares, después de cada prueba de control de calidad o bajo petición por el usuario. Durante este proceso de autocalibrado una rutina de software de autocalibrado del software de análisis/verificación y autocalibrado de la temperatura inicia un proceso de ciclo cerrado, donde los valores de temperatura reales o últimos comunicados desde las sondas de temperatura de la placa de sondas de temperatura 34 se comparan con los valores de temperatura objetivo programados y donde el rendimiento de temperatura de los elementos Peltier o calentadores eléctricos 18 del bloque térmico 14 se modifican por medio del control electrónico 22 dependiendo de la diferencia entre los valores de temperatura reales/últimos y los valores de temperatura objetivo.

Para cualquier imprecisión además la placa de sondas de temperatura 34 que incluye todas sus sondas de temperatura 36 puede ser calibrada individual y externamente desconectando los contactos eléctricos 37, 39 o la conexión por enchufe entre la placa de sondas de temperatura 34 y la interfaz interna 26. Durante el calibrado externo, las sondas de temperatura 36 de la placa de sondas de temperatura 34 se sumergen en un baño de aceite circulado y se calibran térmicamente para ajustarse a las normas nacionales de temperatura o de medición. Resulta posible no solo validar el rendimiento térmico del termociclador 10 sino también verificarlo en su disposición para realizar un experimento real y asegurar la precisión de la medición de la temperatura. En otras palabras, asegurarse de que un ajuste predeterminado de la temperatura con los pocillos de muestra, por ejemplo 95,0 °C, se alcanza verdadera y precisamente durante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), identificable por las normas nacionales.

REIVINDICACIONES

1. Termociclador (10) que comprende;

- 5 - un alojamiento (12), acomodando el alojamiento (12) un bloque térmico (14) que tiene una pluralidad de pocillos de muestra (32), cada uno para recibir una muestra de ensayo en un recipiente de muestra, un medio calentador eléctrico (18) para calentar el bloque térmico (14), un suministro de energía (24) y un control electrónico (22) para controlar el medio calentador eléctrico (18),
- 10 - una unidad de análisis y verificación de la temperatura (28) para analizar y verificar un rendimiento térmico del bloque térmico (14), es decir, que las temperaturas logradas en los pocillos de muestra (32) son conformes a la especificación,
- 15 - en donde la unidad de análisis y verificación de la temperatura (28) comprende una placa de sondas de temperatura (34) que tiene una pluralidad de sondas de temperatura (36) para medir la temperatura dentro de los pocillos de muestra (32) seleccionados,

**caracterizado por que** la unidad de análisis y verificación de la temperatura (28) está integrada en el alojamiento (14) y está conectada al suministro de energía (24) y al control electrónico (22) mediante una interfaz interna (26) y por que una conexión eléctrica entre la placa de sondas de temperatura (34) y la interfaz (26) se puede desconectar para la retirada de la placa de sondas de temperatura (34) desde el termociclador (10) para el calibrado externo.

2. Termociclador de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** la unidad de análisis y verificación de la temperatura (28) comprende un control de ciclo cerrado para el calibrado del medio calentador eléctrico (18) dependiendo de la temperatura medida por las sondas de temperatura (36) dentro de los pocillos de prueba seleccionados (32).

3. Termociclador de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizado por que** la placa de sondas de temperatura (34) está acomodada dentro de un compartimento de almacenaje (52) del alojamiento (14) y se puede retirar del compartimento de almacenaje (52) para sustitución sobre el bloque térmico (14).

4. Termociclador de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** las sondas de temperatura (36) sobresalen desde un lado ancho (42) de la placa de sondas de temperatura (34) y **por que** el compartimento de almacenaje (52) tiene una forma de tipo ranura para insertar la placa de sondas de temperatura (34) con un lado estrecho de la placa de sondas (34) opuesto a una abertura (54) del compartimento de almacenaje (52).

5. Termociclador de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizado por que** la abertura (54) del compartimento de almacenaje (52) está situado sobre la parte superior del alojamiento (14) cerca del bloque térmico (14) con los pocillos de muestra (32).

6. Termociclador de acuerdo con una de las reivindicaciones 3 a 5, **caracterizado por que** el compartimento de almacenaje (52) comprende medios de guiado para guiar la placa de sondas de temperatura (34) durante la inserción en el compartimento de almacenaje (52).

7. Termociclador de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la placa de sondas de temperatura (34) está conectada a la interfaz (26) cuando se cierra una tapa caliente (16) del termociclador (10).

8. Termociclador de acuerdo con una de las reivindicaciones 3 a 7, **caracterizado por que** la placa de sondas de temperatura (34) está conectada a la interfaz (26) mediante al menos un cable (38) que se extiende desde la placa de sondas de temperatura (34) en el compartimento de almacenaje (52).

9. Termociclador de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la unidad de análisis y verificación de la temperatura (28) está conectada a un monitor (30) en el alojamiento (12) mediante la interfaz (26).

10. Método para analizar o verificar un rendimiento térmico de un termociclador (10) y para calibrar el termociclador (10), caracterizado por las siguientes etapas:

- provisión del termociclador (10) con una unidad integrada de análisis y verificación de la temperatura (28), comprendiendo la unidad integrada de análisis y verificación de la temperatura (28) una placa de sondas de temperatura (34) que tiene una pluralidad de sondas de temperatura (36), con lo que
- las sondas de temperatura (36) comunican valores de temperatura al control electrónico (22) a una interfaz interna (26) del termociclador (10),
- medición de las temperaturas dentro de los pocillos de muestra (32) de un bloque térmico (14) del termociclador (10) mediante la placa de sondas de temperatura (34),
- uso de la unidad integrada de análisis y verificación de la temperatura (28) para la verificación, es decir, que las temperaturas logradas en los pocillos de muestra (32) son conformes a la especificación,

- uso de la unidad integrada de análisis y verificación de la temperatura (28) para el autocalibrado del termociclador (10) y
- desconexión de una conexión eléctrica entre la placa de sondas de temperatura (34) y el termociclador (10) y retirada de la placa de sondas de temperatura (34) del termociclador (10) para un calibrado externo independiente de la placa de sondas de temperatura (34).

5

11. Método de acuerdo con la reivindicación 10, **caracterizado por** la etapa de inicio de un autocalibrado del termociclador en un proceso de ciclo cerrado usando valores de temperatura comunicados por las sondas de temperatura.

10

12. Uso del termociclador y método de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores para PCR.

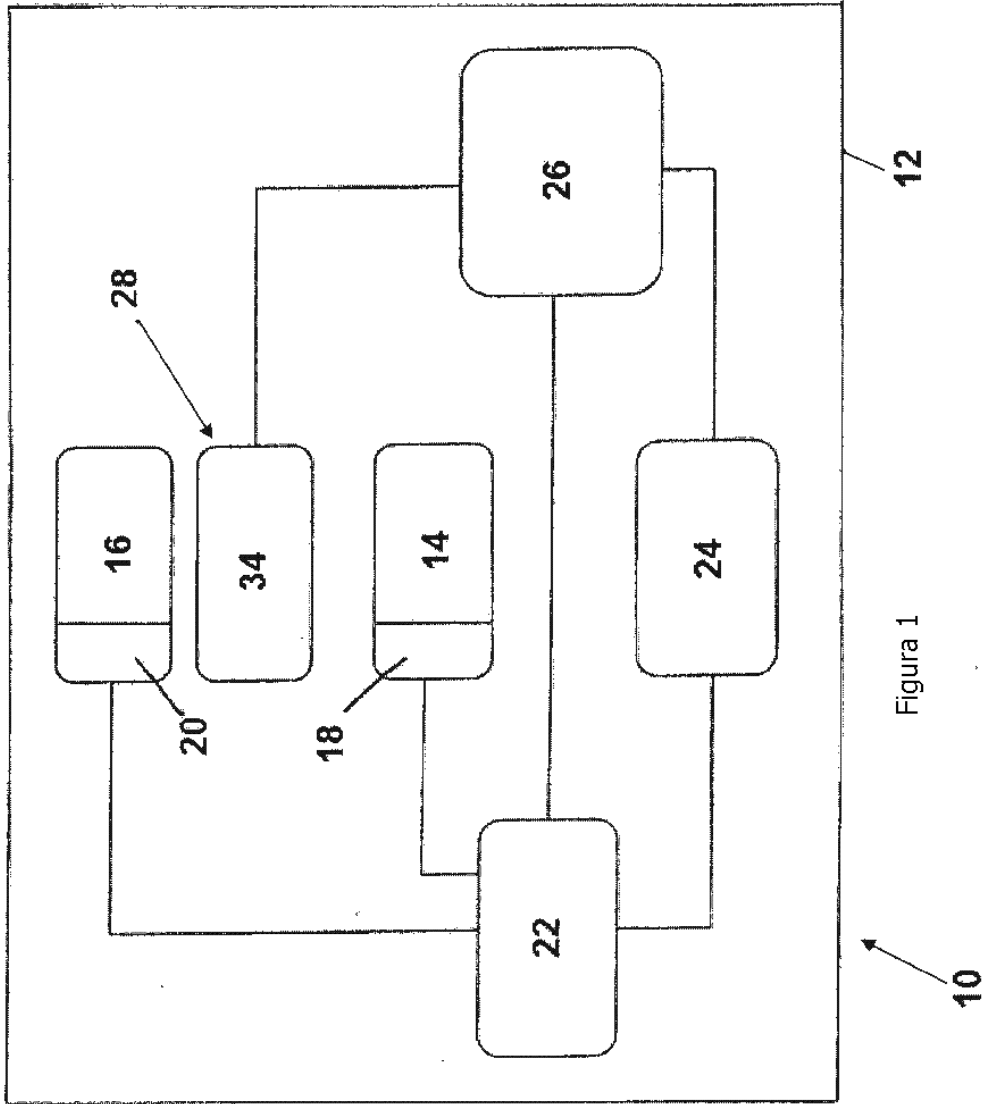


Figura 1

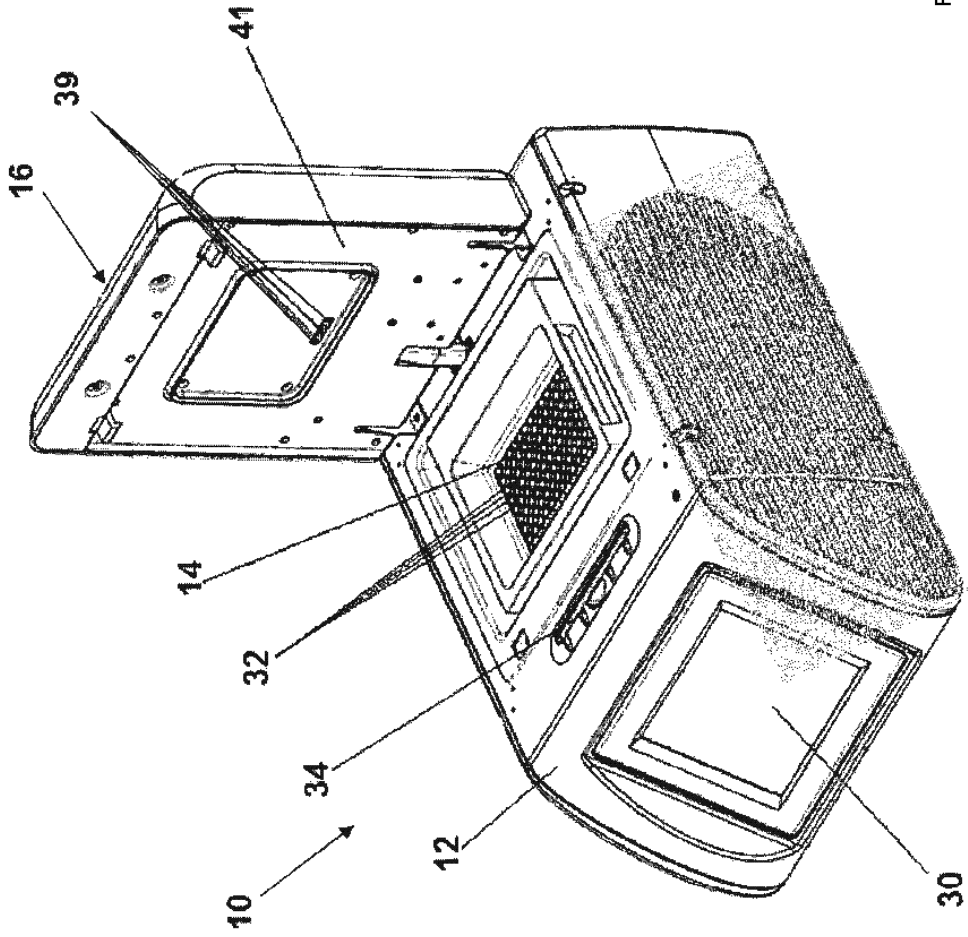


Figura 2

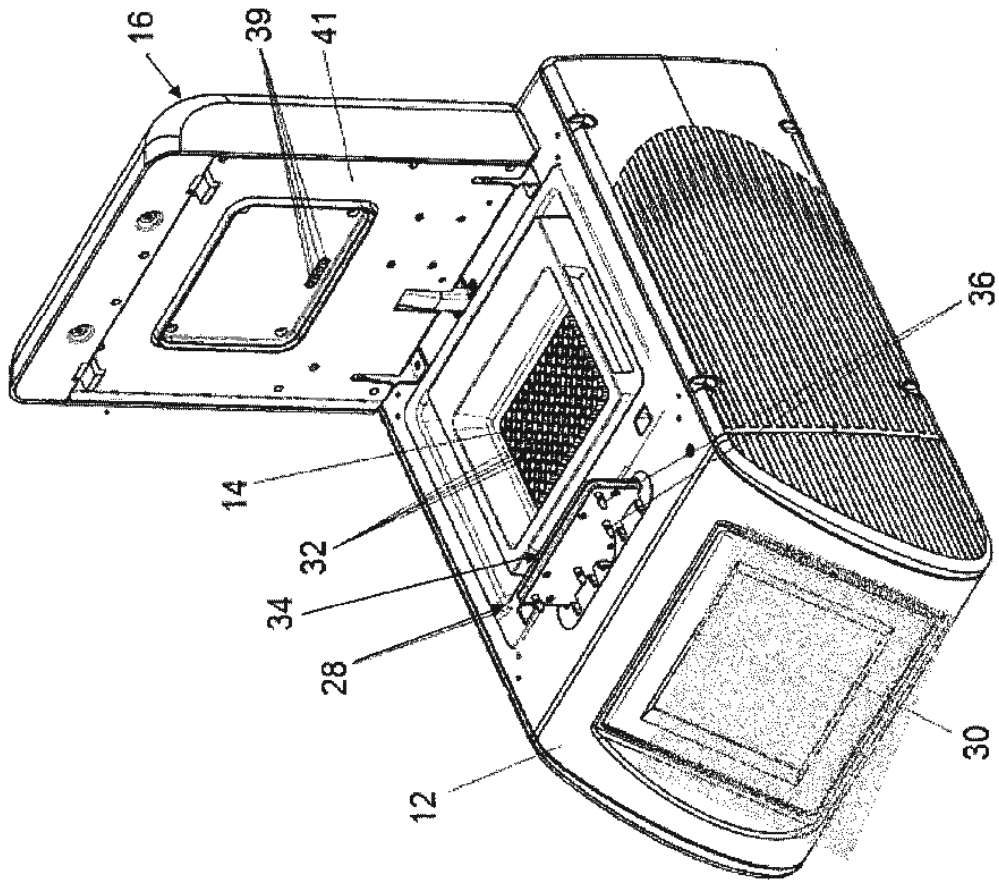


Figura 3

Figura 4

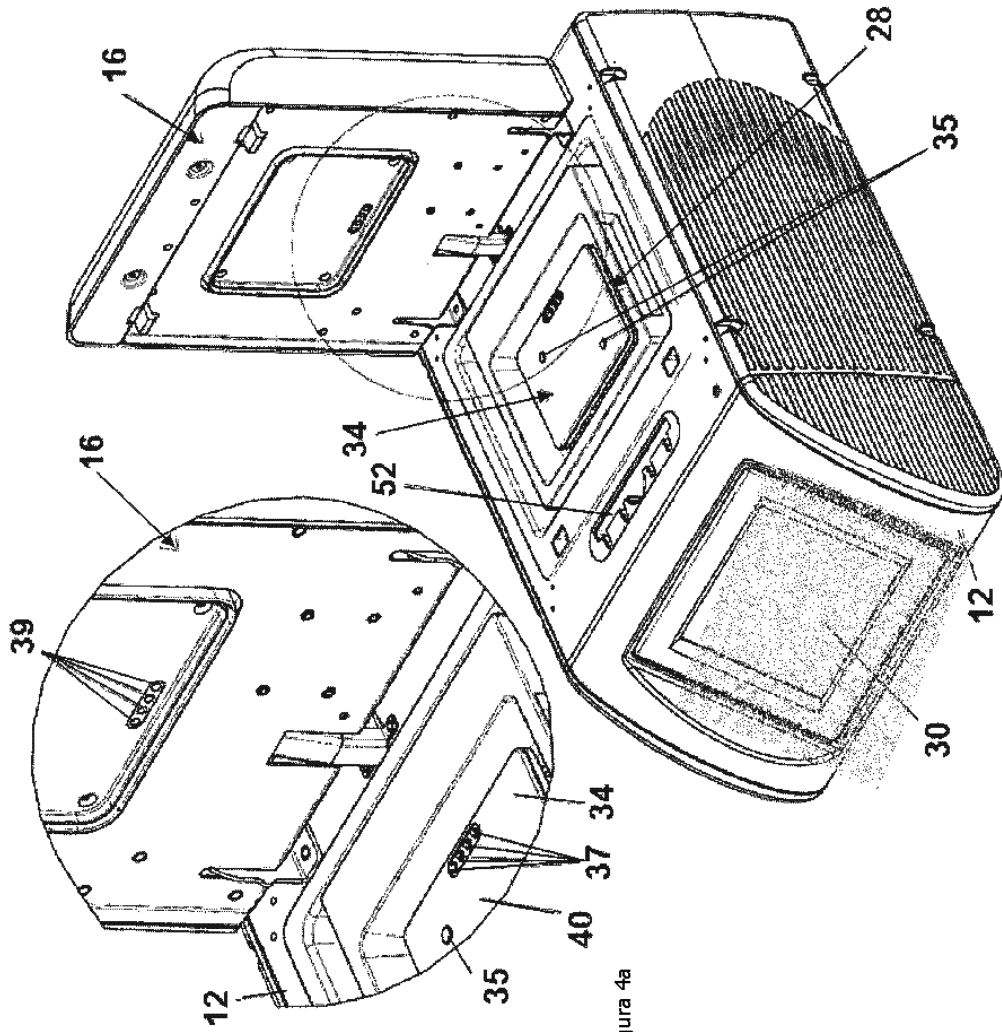


Figura 4a

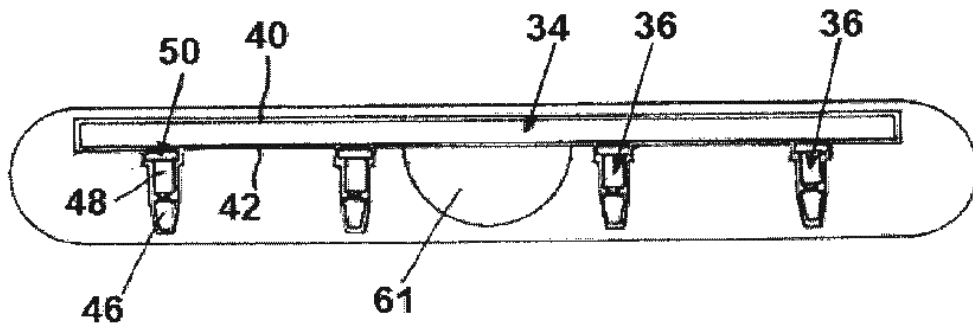


Figura 5

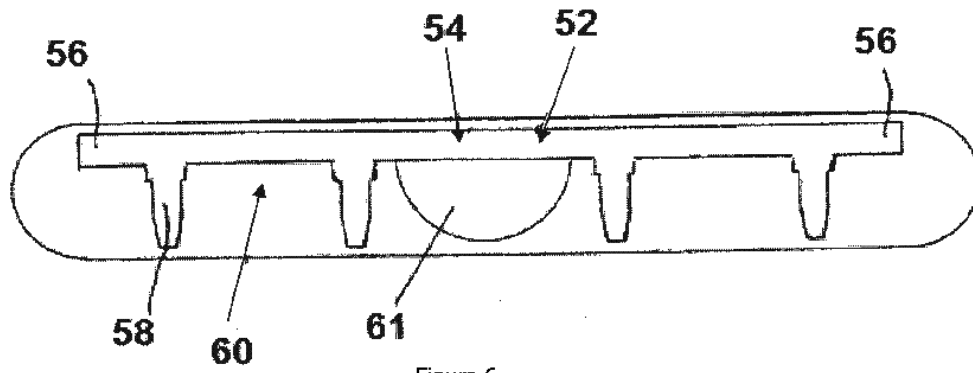


Figura 6

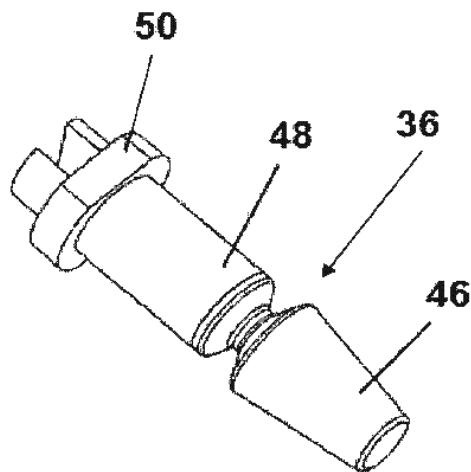


Figura 7



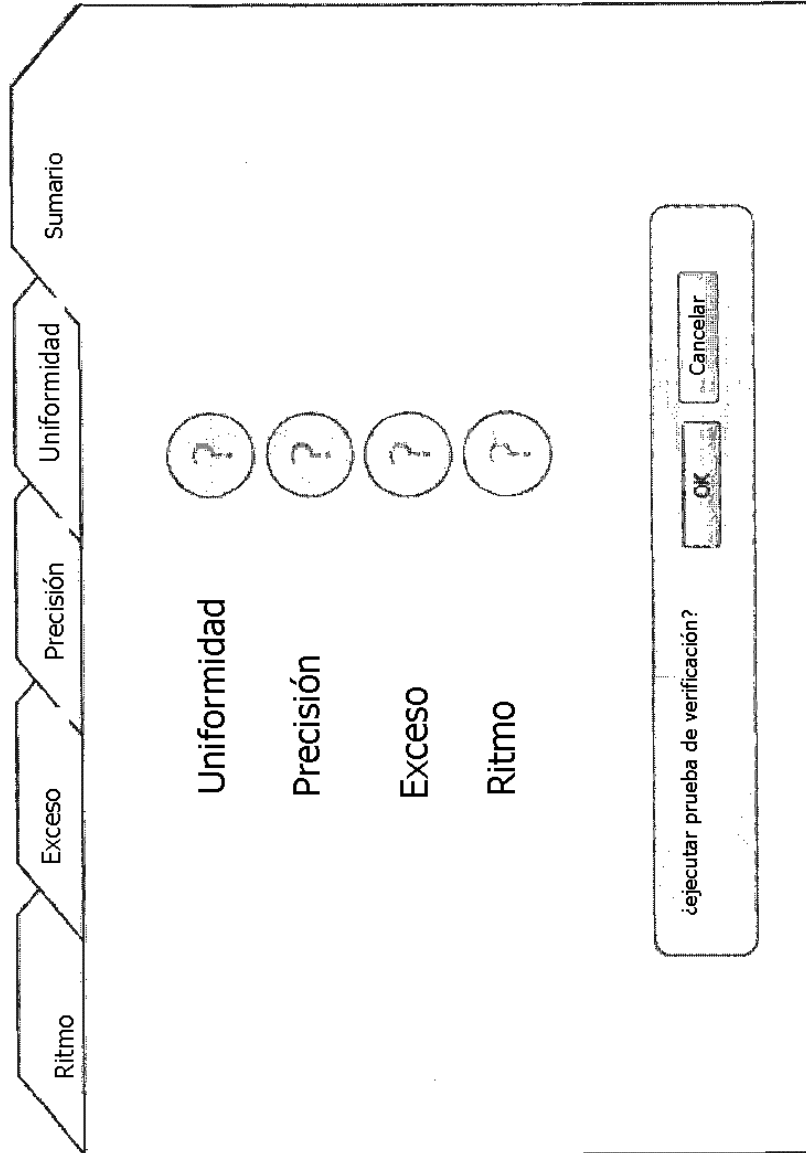


Figura 8

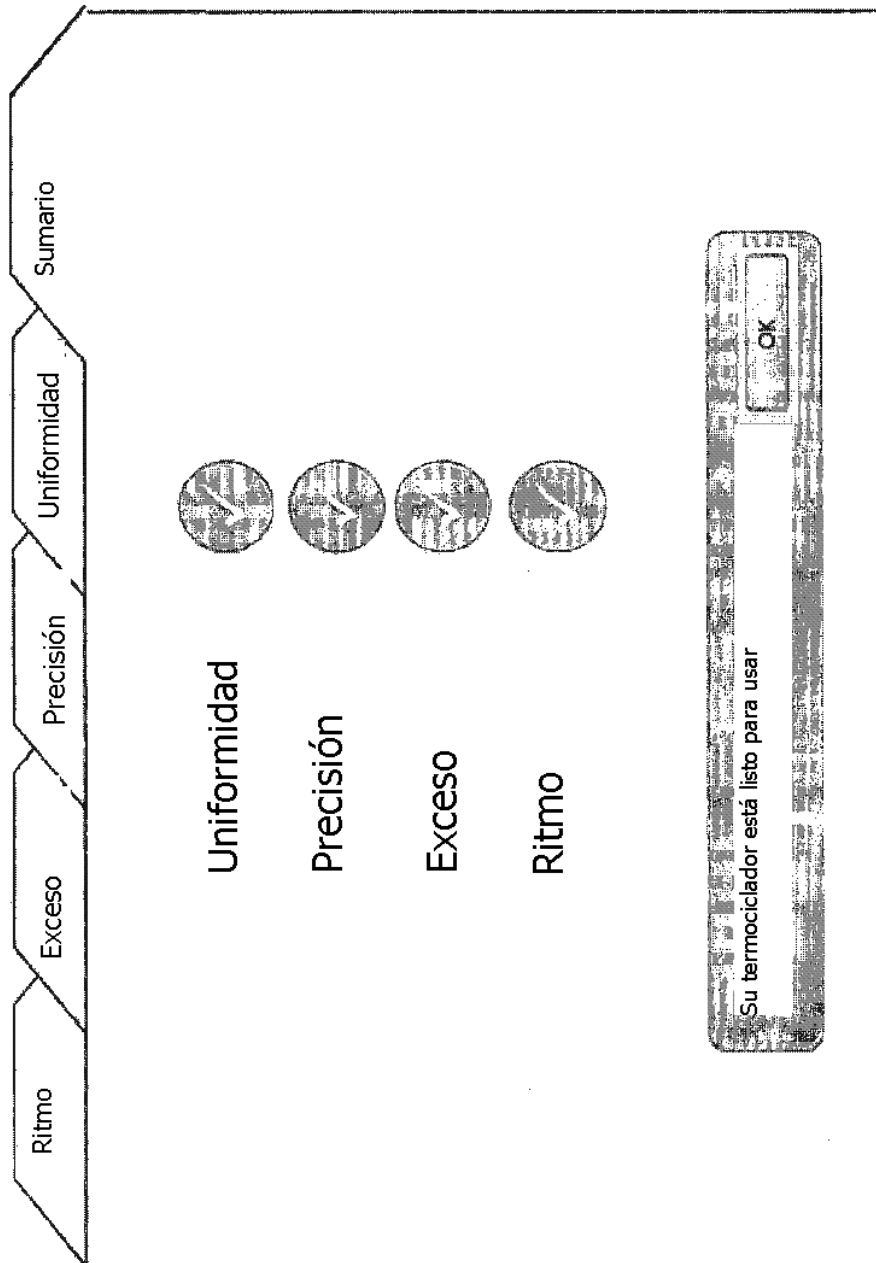


Figura 9

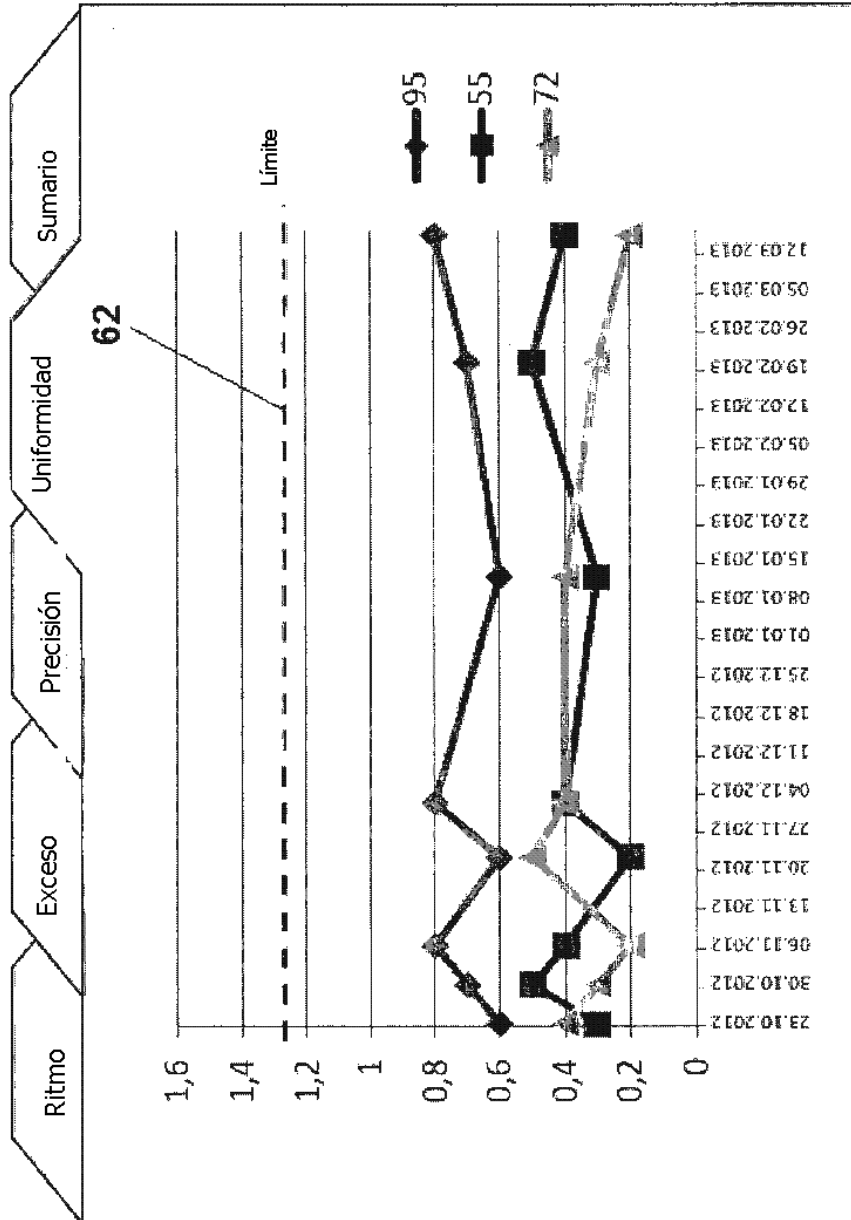


Figura 10

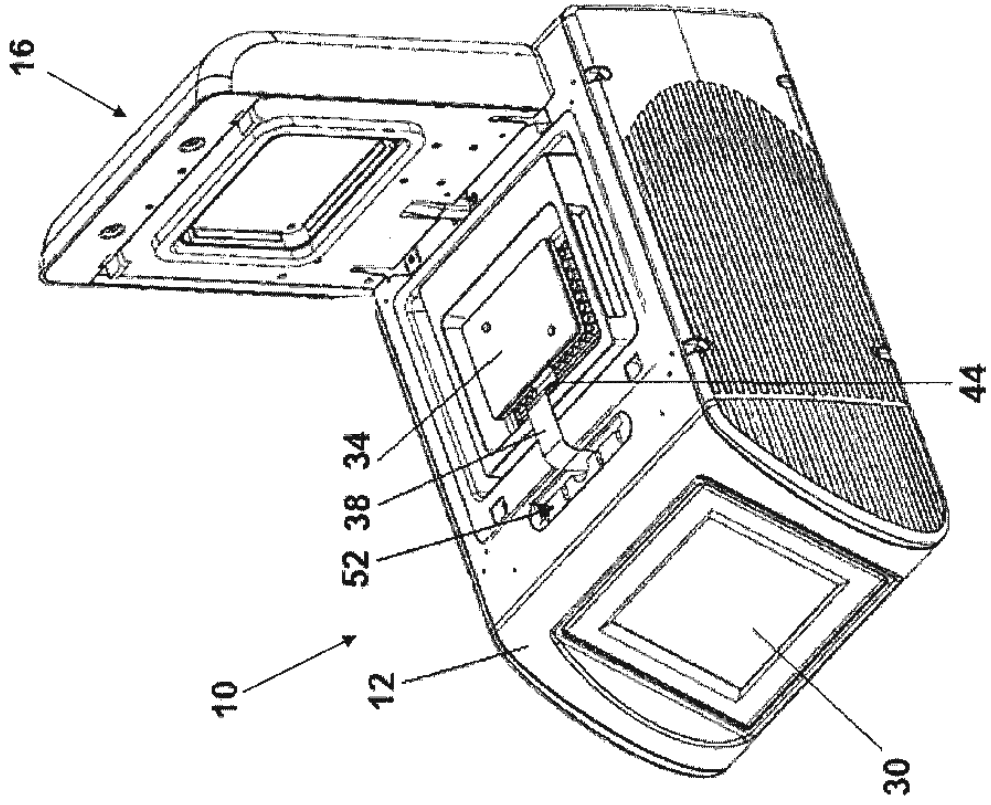


Figura 11