

# ALGORITMOS DE MODELADO Y CALIBRACIÓN DE UN PROTOTIPO DE TERMOCICLADOR PARA PCR

**Juan M. Montes-Sánchez\*, Ángel Jiménez-Fernández, Saturnino Vicente-Díaz**

*Arquitectura y Tecnología de Computadores, Universidad de Sevilla, Sevilla.*

E-mail de correspondencia: [jmontes@atc.us.es](mailto:jmontes@atc.us.es)

## Resumen

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se apoya hoy en día en el uso de termocicladores: dispositivos capaces de realizar ciclos de temperatura rápidos y precisos. En este trabajo se ha desarrollado una técnica de calibración para un prototipo de termociclador, así como un modelado lineal por tramos, y se ha medido su impacto en la reducción de errores. La técnica es replicable de manera semiautomática de cara a una futura producción en serie del termociclador. Los resultados en la implementación han logrado reducir el error a valores en torno al 1%.

## 1. Introducción

Inventada en 1985 por Kary Mullis (Saiki *et al.*, 1988), la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica usada en biología sintética para replicar muestras de ADN y obtener una cantidad suficiente de material con el que realizar después diferentes técnicas de diagnóstico. Hay dos elementos importantes en dicho procedimiento: los reactivos (químicos necesarios para que ocurra la replicación) y un termociclador, que es el aparato que realizará los cambios de temperatura necesarios.

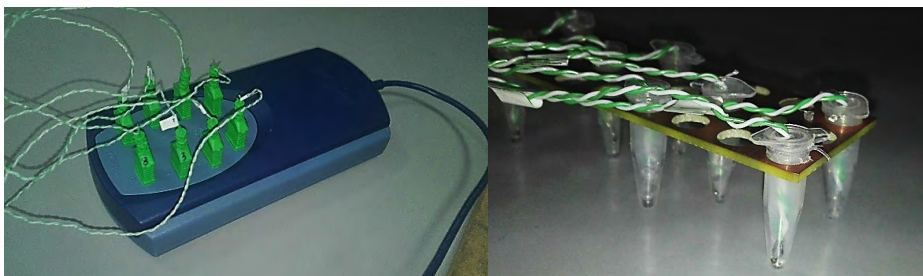
Varios estudios ya se han encargado de probar en qué medida puede afectar cada elemento al resultado del proceso (Borman *et al.*, 2000), coincidiendo la mayoría de ellos en la importancia de mantener temperaturas correctas en cada fase (Kim *et al.*, 2008; Schoder *et al.*, 2005).

En el presente proyecto se ha propuesto el desarrollo de un procedimiento estándar de modelado y calibración, ajustado a las características particulares del prototipo y pensando en su futura producción industrial.

## 2. Materiales y métodos

Los principales elementos que intervienen en este trabajo son:

- El prototipo de termociclador, desarrollado por Vitro Group. Tiene doble peltier, 24 pocillos para tubos de muestra, tapa caliente y electrónica y software de control específicos. Dispone también de dos termopares internos para monitorizar la temperatura.
- Instrumental de medida de temperaturas, compuesto por un PicoLog USB TC-08 con su software y 8 sondas termopar adaptadas (Figura 1). Se ha enviado el aparato al fabricante para su calibración, y el error de las sondas se ha corregido realizando una calibración a dos puntos.

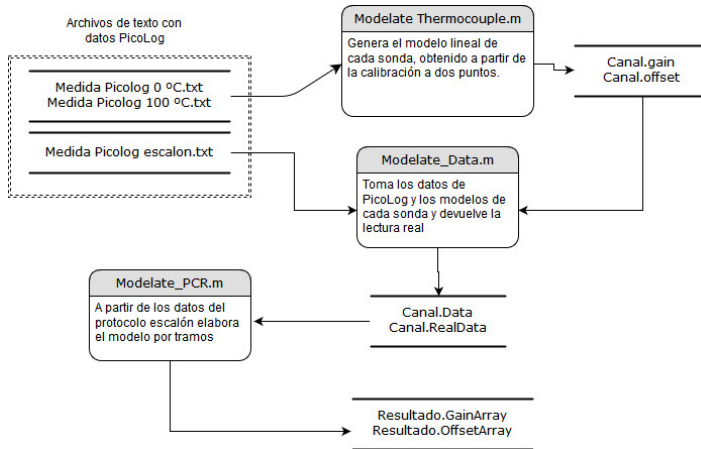


**Figura 1.** PicoLog USB TC-08 (izq.) y sondas termopar (dcha.).

**Fuente:** elaboración propia.

Utilizando las sondas conectadas al PicoLog, dispuestas en una matriz se registra la temperatura real a la que están los pocillos. Se ha elaborado un protocolo estándar de 9 fases, de 90 s de duración cada, incrementando en 10 °C la temperatura en cada fase desde 10 °C hasta 90 °C. Las medidas reales del ciclo completo quedan registradas en un archivo de texto.

Este archivo se procesa con un algoritmo desarrollado en Matlab, que toma el modelo ajustado para cada canal y devuelve las lecturas reales tras eliminar el error de medida. Posteriormente el algoritmo calcula un modelo lineal por tramos para corregir las desviaciones de temperatura del sistema (Figura 2).



**Figura 2.** Diagrama de funcionamiento del algoritmo de MatLab.

**Fuente:** elaboración propia.

### 3. Resultados y discusión

El modelo calculado se implementó en el termociclador de forma que usase este ajuste como la nueva relación entre su medida interna y la medida real, corrigiendo el error. Su eficacia se mide posteriormente con el PicoLog.

#### 3.1. Calibración de instrumental

**Tabla 1.** Comparativa de errores con y sin calibración.

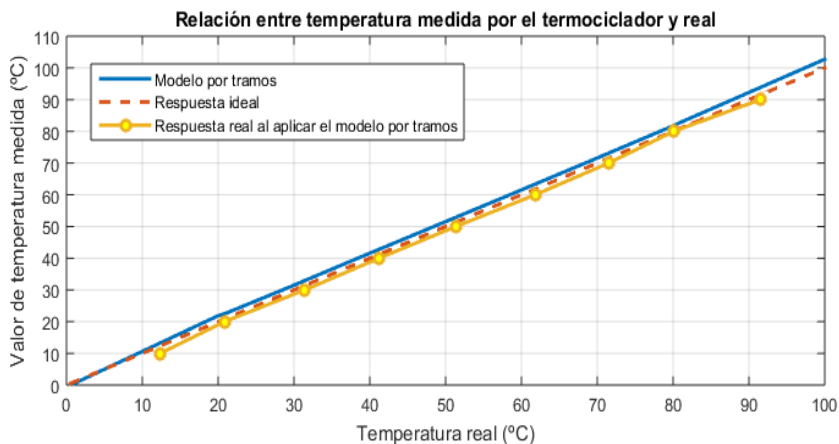
	Error medio			
	Sin ajuste de sondas		Con ajuste de sondas	
	T=0 °C	T=100 °C	T=0 °C	T=100 °C
<b>Picolog SIN Calibrar (°C)</b>	0.3680	11.1684	-0.0512	1.6869
<b>Picolog Calibrado (°C)</b>	0.7239	10.4243	0.0274	-1.5997

**Fuente:** elaboración propia.

En la Tabla 1 se comparan diferentes casos de medición con PicoLog y sondas con y sin calibración. Tanto la falta de mantenimiento del aparato (sin calibrar) como la utilización de las sondas sin modelado previo influyen en el error cometido.

#### 3.2. Modelo ideal y modelo por tramos

En la Figura 3 se muestra el resultado de la implementación del modelo propuesto. El mayor error medido ha sido en el tramo de 10-20 °C y no ha superado el 1,3% del valor. Para el resto de los valores se ha mantenido en torno al 1%.



**Figura 3.** Implementación del modelo: respuesta medida real frente a ideal.

**Fuente:** elaboración propia.

### 3.3. Automatización del proceso de calibrado

En el nuevo procedimiento propuesto está bien definido el modo de proceder a la hora de realizar la calibración, por lo que puede estandarizarse y replicarse con facilidad. Además, la mayor parte del proceso y todos los cálculos necesarios se realizan de manera automática mediante algoritmos, minimizando la posibilidad de fallo.

## 4. Conclusiones

Estamos ante un estudio que puede traducirse en una aplicación directa de la innovación al mundo empresarial. Se ha optimizado el funcionamiento del prototipo para acercarse al considerado como bueno en los estudios referenciados. Además, el procedimiento propuesto reducirá el tiempo de calibración, optimizando la fabricación y mantenimiento de los equipos. Este ahorro se traduciría en beneficio económico para el fabricante.

## Agradecimientos

A Vitro Group ([www.vitro.bio](http://www.vitro.bio)) y a Control of Biomedical Embedded Robotics S.L. ([www.t-cober.es](http://www.t-cober.es)), empresas que han financiado este trabajo y permitido su posterior difusión.

## Referencias bibliográficas

- Borman, J., Schuster, D., Li, W. B., Jessee, J., y Rashtchian, A.** (2000). PCR from Problematic Templates. *Focus*, 22(1), 10-11.
- Kim, Y. H., Yang, I., Bae, Y. S., y Park, S. R.** (2008). Performance evaluation of thermal cyclers for PCR in a rapid cycling condition. *BioTechniques*, 44(4), 495-505. <https://doi.org/10.2144/000112705>
- Saiki, R., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B., y Erlich, H. A.** (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(6479), 4839. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2448875>
- Schoder, D., Schmalwieser, A. W., Schauburger, G., Hoorfar, J., Kuhn, M., y Wagner, M.** (2005). Novel Approach for Assessing Performance of PCR Cyclers Used for Diagnostic Testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(6), 2724-2728. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.6.2724-2728.2005>