

# ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΙΑΚΡΙΒΩΣΗΣ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΚΥΚΛΟΠΟΙΗΤΩΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

**Γ. Χατζούδης, Δ. Τέντας**

**TOTAL Q Εργαστήρια Διακριβώσεων Α.Ε., Κοργιαλενίου 20, ΤΚ 11526, Αθήνα**

## Περίληψη

Οι μέθοδοι διακριβώσης των θερμικών κυκλοποιητών (PCR) ποικίλλουν ανάλογα με τον τρόπο προσέγγισης της διαδικασίας. Οι επικρατέστερες μέθοδοι προσεγγίζουν τη διακριβώση των PCR:

1. από την οπτική γωνία του μοριακού βιολόγου, με μίμηση της ακολουθούμενης διαδικασίας·
2. από την οπτική γωνία του κλινικού χημικού, ακολουθώντας μια τυποποιημένη μέθοδο για κάθε τύπο κυκλοποιητή· και
3. από την οπτική γωνία του μετρολόγου, ο οποίος ενδιαφέρεται για την ιχνηλασιμότητα των μετρήσεών του, τον έλεγχο των περιβαλλοντικών συνθηκών, την ελαχιστοποίηση της αβεβαιότητας των μετρήσεών του και τον περιορισμό των αστάθμητων παραγόντων που επηρεάζουν το αποτέλεσμα της μέτρησης.

Στην εργασία αυτή περιγράφεται, μεταξύ άλλων, μια μέθοδος διακριβώσης των θερμικών κυκλοποιητών που λαμβάνει υπόψη τα πρωτόκολλα που ακολουθεί ο χειριστής της υπό διακριβώση συσκευής, τις απαιτήσεις του προτύπου ISO/IEC 17025 και τις πρακτικές ελαχιστοποίησης της αβεβαιότητας των μετρήσεων. Παρουσιάζεται η τεχνική μέτρησης της θερμοκρασίας του πλατό, η απεικόνιση των παραμέτρων που χαρακτηρίζουν τη μετρολογική κατάσταση του PCR και ο τρόπος παρουσίασης των αποτελεσμάτων στο πιστοποιητικό διακριβώσης. Επίσης, παρουσιάζονται παραδείγματα θερμικών κυκλοποιητών με αποδεκτή λειτουργία και άλλα με συνήθη προβλήματα θερμικής ανομοιογένειας, υπέρβασης της θερμοκρασίας καθώς και τρόποι αντιμετώπισής τους.

Προτείνονται κριτήρια αξιολόγησης των αποτελεσμάτων της διακριβώσης και χαρακτηρισμός των θερμικών κυκλοποιητών ως προς την ανομοιογένεια της θερμοκρασίας κατά τα στάδια της θέρμανσης, ψύξης και αναμονής (hold time) και ως προς την ενδεχόμενη υπέρβαση της θερμοκρασίας κατά τη θέρμανση και ψύξη (overshoot) μεταξύ των σταδίων του εφαρμοζόμενου πρωτοκόλλου.

*Λέξεις - κλειδιά: θερμικός κυκλοποιητής, PCR, ομοιομορφία, overshoot, αξιολόγηση*

## Abstract

The thermocycler (PCR) calibration methods vary depending on the process approach. Different methods of calibrating PCRs include:

1. calibration by mimicking the PCR process (the molecular biologist's perspective);
2. calibration based on a standardized method representative of the PCR process (the clinical chemist's perspective);
3. calibration emphasising on the traceability of measurements, controlled environmental conditions, minimal measurement uncertainty and limiting the variables that affect the result of the measurement (the metrologist's perspective).

This paper describes, among others, a thermocycler calibration method based on the protocols used, the requirements according to the ISO/IEC 17025 standard, and the practices applied to minimize the measurement uncertainty. Furthermore, it features a method to measure temperature during the plateau phase, a presentation of the parameters that characterize PCRs from a metrological perspective, as well as the way that results are outlined in the calibration certificate. In addition, this paper presents indicative examples of thermocyclers with acceptable function or with common problems of thermal non-uniformity or temperatures beyond the thermal boundaries, as well as ways to resolve these problems.

Finally, this paper proposes criteria for evaluating the calibration results and qualifying thermocyclers based on the temperature non-uniformity during the heating, cooling and hold phase, as well as on temperatures beyond thermal boundaries during heating and cooling (overshoot) between the different stages of the protocol applied.

*Keywords: thermocycler, PCR, uniformity, overshoot, evaluation*

## 1. Εισαγωγή

Οι θερμικοί κυκλοποιητές (PCR) αναπτύχθηκαν πριν από 30 χρόνια περίπου από τον Kary Mullis, στον οποίο απονεμήθηκε το Nobel Χημείας το 1993. Αποτελούν μια απαραίτητη τεχνική στην έρευνα της επιστήμης της υγείας και, πιο πρόσφατα, στις διαγνώσεις ρουτίνας σε δείγματα ανθρώπων και ζώων.

Η λειτουργία των PCRs βασίζεται στη δημιουργία από τον χρήστη ενός πρωτοκόλλου μετάβασης και παραμονής σε επιλεγμένες θερμοκρασίες και στην επανάληψη αυτής της διαδικασίας. Η διαδικασία λειτουργίας του PCR φαίνεται απλή, ωστόσο συχνά διαπιστώνονται προβλήματα στην εκτέλεση του πρωτοκόλλου που έχει καθορίσει ο χειριστής του.

Η απαίτηση των εσωτερικών ελέγχων της εφαρμοζόμενης διαδικασίας ή/και της εφαρμογής της διαπίστευσης σύμφωνα με το πρότυπο ISO/IEC 17025 οδήγησε στον εξωτερικό έλεγχο των τεχνικών χαρακτηριστικών των PCRs μέσω της διακρίβωσής τους.

Στόχος αυτής της εργασίας είναι να προτείνει μια ρεαλιστική και τεχνικά εφαρμόσιμη μέθοδο διακρίβωσης των PCRs, η οποία θα βασίζεται στις μετρολογικές απαιτήσεις και θα λαμβάνει υπόψη τις συνθήκες λειτουργίας του υπό διακρίβωση οργάνου από τον χειριστή του.

## 2. Ορισμοί

Ακρίβεια (Accuracy): Η διαφορά της μέσης μετρούμενης θερμοκρασίας του πλατό από τη ρυθμιζόμενη θερμοκρασία σε καθορισμένη χρονική περίοδο (Σχήμα 1α).

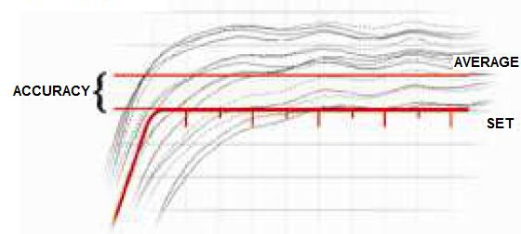
Ομοιομορφία (Uniformity): Η διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ του θερμότερου από το ψυχρότερο πηγαδιού (well) μέτρησης του πλατό σε καθορισμένη χρονική περίοδο (Σχήμα 1β).

Υπέρβαση θερμοκρασίας (Overshoot/Undershoot): Η υπέρβαση της θερμοκρασίας του πλατό κατά την έναρξη του σταδίου παραμονής από τη θερμοκρασία ρύθμισης (Σχήμα 1γ).

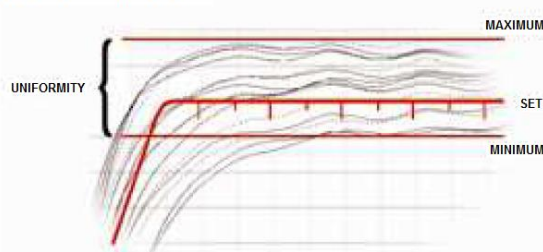
Ταχύτητα θέρμανσης/ψύξης (Ramp rate): Η ταχύτητα θέρμανσης ή ψύξης του πλατό κατά τη μετάβαση από μια θερμοκρασία σε μια άλλη σε καθορισμένες συνθήκες (Σχήμα 1δ).

Χρόνος αναμονής (Hold time): Ο χρόνος παραμονής του πλατό σε προκαθορισμένη θερμοκρασία για προκαθορισμένο χρόνο.

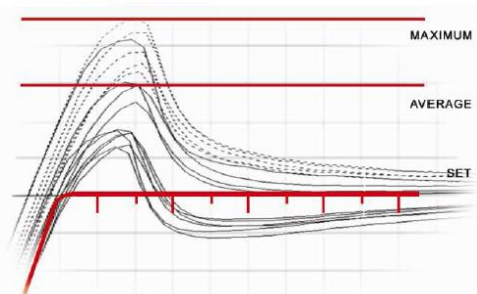
α) Ακρίβεια



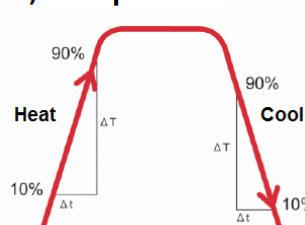
β) Ομοιομορφία



γ) Overshoot



δ) Ramp rates



Σχήμα 1: Απεικόνιση κρίσιμων παραμέτρων των θερμικών κυκλοποιητών

## 4. Μεθοδολογία

### 4.1 Ανάλυση της υφιστάμενης κατάστασης στη διακρίβωση θερμικών κυκλοποιητών

Στην Ελλάδα υπάρχουν αρκετά εργαστήρια διακρίβωσης τα οποία είναι διαπιστευμένα για τη διακρίβωση θερμικών κυκλοποιητών. Στη συντριπτική τους πλειονότητα, η προσέγγιση της διακρίβωσης των PCR's πραγματοποιείται με μέτρηση 1 έως 5 σημείων του πλατό κάτω από συνθήκες σταθεροποίησης της θερμοκρασίας και αντιμετωπίζουν το PCR ως ένα απλό θερμοστατούμενο μπλοκ και όχι ως ένα δυναμικό σύστημα. Η προσέγγιση αυτή περιορίζεται στην εκτίμηση της ομοιομορφίας, της σταθερότητας και της ακρίβειας της θερμοκρασίας του πλατό σε τρία συνήθως επίπεδα θερμοκρασίας

ελέγχου. Διασφαλίζεται η ιχνηλασιμότητα των μετρήσεων στην κλίμακα ITS-90, ενώ στα πιστοποιητικά διακρίβωσης που εκδίδονται εκτιμάται η αβεβαιότητα μέτρησης χωρίς πολλές φορές να περιλαμβάνεται η συνεισφορά της αβεβαιότητας του υπό διακρίβωση θερμοκού κυκλοποιητή.

Μόνο ένα διαπιστευμένο εργαστήριο διακρίβωσης αντιμετωπίζει τους θερμικούς κυκλοποιητές ως ένα δυναμικό σύστημα και πραγματοποιεί ταυτόχρονες μετρήσεις σε 16 θέσεις του πλατό, λαμβάνοντας υπόψη τις συνθήκες χρήσης του υπό διακρίβωση οργάνου. Τα πιστοποιητικά διακρίβωσης που εκδίδονται σε αυτήν την περίπτωση περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, την ακρίβεια της ένδειξης του κυκλοποιητή, την ανομοιογένεια του πλατό κατά τη θέρμανση, ψύξη και σταθεροποίηση της θερμοκρασίας, την υπέρβαση της θερμοκρασίας κατά τη θέρμανση και ψύξη στις διάφορες ελεγχόμενες θερμοκρασίες και την ταχύτητα θέρμανσης και ψύξης (ramp rate).

Στο εμπόριο είναι διαθέσιμα κλειστά συστήματα επαλήθευσης (validation) της λειτουργίας των θερμικών κυκλοποιητών, τα οποία είναι σχεδιασμένα να μετρούν ταυτόχρονα τη θερμοκρασία του πλατό σε μέχρι 15 θέσεις μέτρησης. Το λογισμικό επεξεργασίας των μετρήσεων είναι σχεδιασμένο από τον κατασκευαστή ώστε να λειτουργεί σαν «μαύρο κουτί» χωρίς να δίνει καμιά δυνατότητα παρέμβασης ή ρύθμισης από τον χειριστή του.

Ο χρήστης του λογισμικού επιλέγει από μια λίστα προκαθορισμένων πρωτοκόλλων και μετά την ολοκλήρωση προκαθορισμένων διαδικασιών στις οποίες δεν μπορεί να παρέμβει, εκδίδεται έκθεση αποτελεσμάτων (report) στην οποία περιλαμβάνεται η ομοιογένεια και η ακρίβεια της θερμοκρασίας, η υπέρβαση και η ταχύτητα θέρμανσης και ψύξης. Τα πλεονέκτημα αυτών των συστημάτων είναι ότι είναι εύκολα στη χρήση και μετρούν τη θερμοκρασία του πλατό ταυτόχρονα σε πολλές θέσεις, ενώ τα σημαντικότερα μειονεκτήματά τους είναι τα εξής:

- Δεν δίνεται η δυνατότητα πρόσβασης στον χρήστη στα πρωτογενή δεδομένα για διόρθωση των ενδείξεων/καταγραφών για διασφάλιση της ιχνηλασιμότητας των μετρήσεων.
- Δεν μετρούν τη θερμοκρασία υπό πραγματικές συνθήκες χρήσης του PCR (μέσα στο δείγμα).
- Απαιτούνται διαφορετικές κεφαλές-αισθητήρια θερμοκρασίας ανάλογα με τον τύπο του PCR το οποίο θα επαληθευτεί.
- Δημιουργούν συνεχή και υπερβολική εξάρτηση του χειριστή από τον κατασκευαστή του συστήματος.

#### **4.2 Μέθοδος διακρίβωσης θερμικών κυκλοποιητών**

Η διαδικασία διακρίβωσης των PCRs, προκειμένου να ικανοποιούνται οι απαιτήσεις του προτύπου ISO/IEC 17025 και οι ανάγκες του χειριστή του, πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον τα παρακάτω:

- Αντιμετώπιση του PCR ως μια δυναμική και όχι ως μια στατική διαδικασία.
- Μέτρηση όλων των θερμικών χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένης της ακρίβειας, της ομοιογένειας, της υπέρβασης της θερμοκρασίας και της ταχύτητας θέρμανσης/ψύξης.
- Μετρήσεις σε τουλάχιστον 15 σημεία μέτρησης που να καλύπτουν ολόκληρο το πλατό και να συμπεριλαμβάνουν και περιφερειακές θέσεις του.

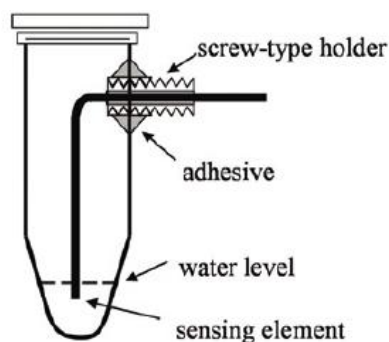
- Χρήση ιχνηλάσιμου στην κλίμακα IST-90 καταγραφικού θερμοκρασίας με συχνότητα καταγραφής  $\leq 1s$  και αβεβαιότητα  $\leq 0,1^{\circ}C$ .
- Υλοποίηση της διαδικασίας από κατάλληλα εκπαιδευμένο και εξουσιοδοτημένο τεχνικό.

Είναι πολύ σημαντικό κατά τη διάρκεια της διακρίβωσης των θερμικών κυκλοποιητών να λαμβάνονται υπόψη οι συνήθεις συνθήκες χρήσης του PCR από τον χειριστή του, ώστε να συμπεριλαμβάνονται στη διαδικασία διακρίβωσης.

Σημαντικές παράμετροι του χειριστή του PCR που επιδρούν στο αποτέλεσμα της μέτρησης και οι οποίες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στη διαδικασία διακρίβωσης είναι:

- η χρήση θερμού ή ψυχρού καπακιού από τον χειριστή κατά τη συνήθη διαδικασία·
- ο συνήθης όγκος δείγματος που χρησιμοποιείται·
- η συνήθης ταχύτητα θέρμανσης και ψύξης που επιλέγει·
- ο τύπος των υποδοχέων δείγματος που συνήθως χρησιμοποιούνται από τον χειριστή.

Είναι πολύ σημαντικό οι μετρήσεις να πραγματοποιούνται με τοποθέτηση του αισθητήρα μέσα σε υγρό συγκεκριμένου όγκου προκειμένου να καταγραφούν οι πραγματικές θερμοκρασίες του δείγματος κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης του πρωτοκόλλου των θερμοκρασιών (Σχήμα 2).



Σχήμα 2: Απεικόνιση τοποθέτησης αισθητήρα στον υποδοχέα του δείγματος

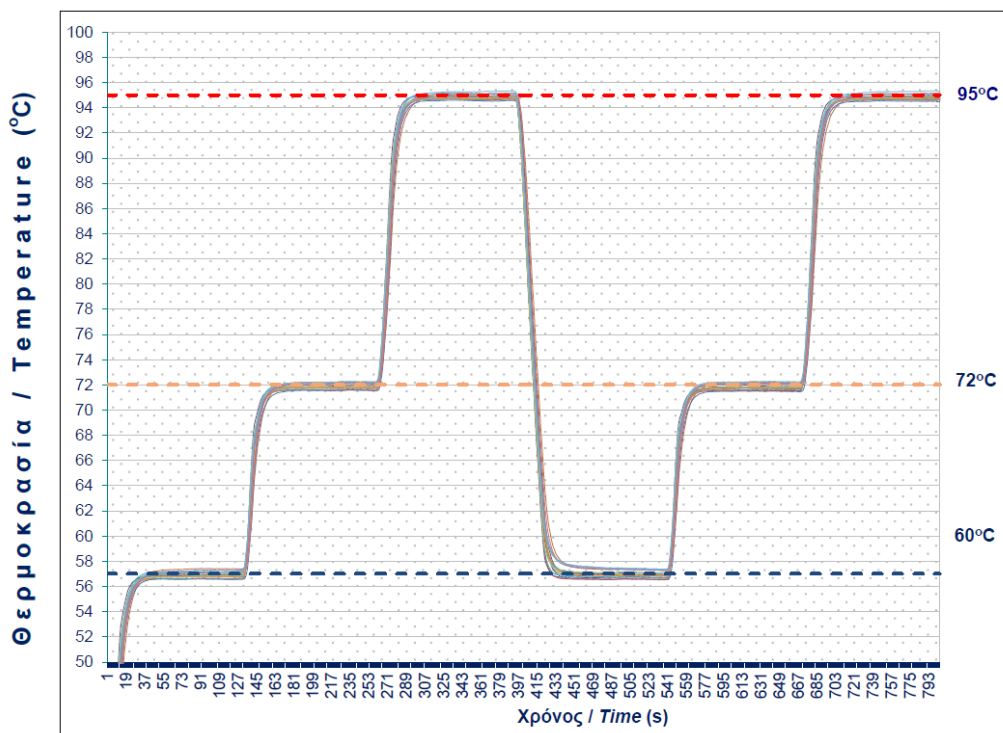
#### 4.3 Πιστοποιητικό διακρίβωσης θερμικών κυκλοποιητών

Το πιστοποιητικό διακρίβωσης των θερμικών κυκλοποιητών που εκδίδεται πρέπει να είναι σύμφωνο με τις απαιτήσεις του ISO/IEC 17025 και να περιλαμβάνει κατ' ελάχιστο:

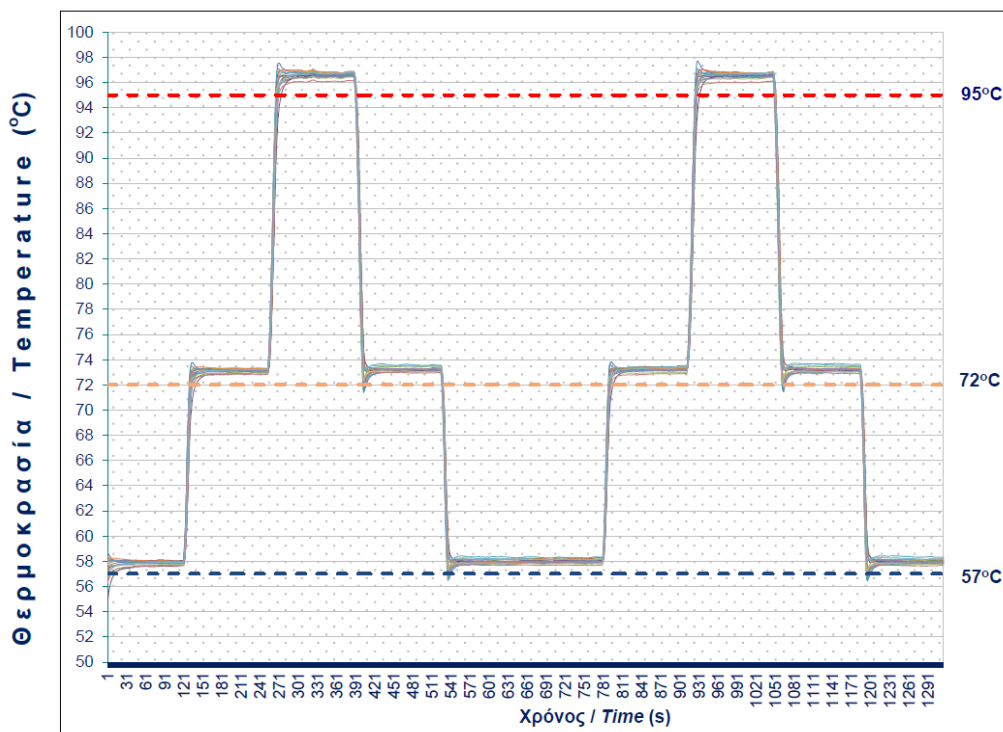
- την ακρίβεια της ένδειξης του θερμικού κυκλοποιητή·
- την ομοιομορφία της θερμοκρασίας κατά το στάδιο της θέρμανσης, της ψύξης και της σταθεροποίησης της θερμοκρασίας·
- την υπέρβαση της θερμοκρασίας κατά το στάδιο της θέρμανσης και ψύξης·
- τις συνθήκες στις οποίες πραγματοποιήθηκε η διακρίβωση του οργάνου·
- την εκτίμηση της αβεβαιότητας στην οποία περιλαμβάνεται και η συνεισφορά του υπό διακρίβωση οργάνου.

Οι απεικονίσεις του πρωτοκόλλου που χρησιμοποιείται κατά τη διακρίβωση, καθώς και της υπερβατικής συμπεριφοράς του θερμικού κυκλοποιητή, αποτελούν πολύτιμα στοιχεία τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν από τον χειριστή του για την εξαγωγή χρήσιμων

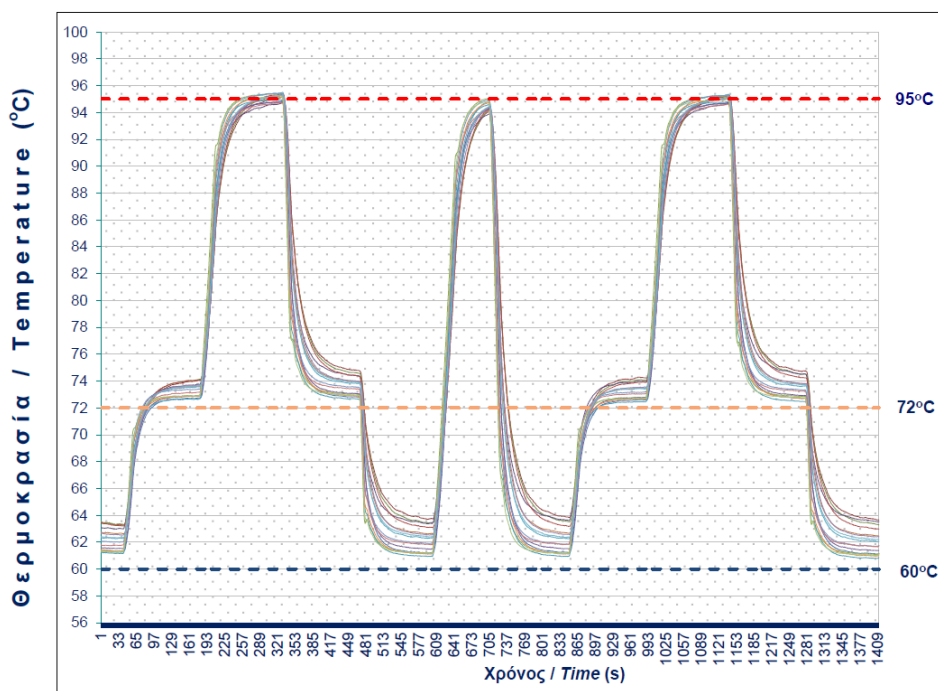
συμπερασμάτων. Στα Σχήματα 3, 4 και 5 δίνονται τρεις αντιπροσωπευτικές συμπεριφορές θερμικών κυκλοποιητών.



Σχήμα 3: Φυσιολογικό προφίλ θερμοκρασιών (από πιστοποιητικό διακρίβωσης Total Q)



Σχήμα 4: Υπερβατικό προφίλ θερμοκρασιών με περιορισμένη ακρίβεια ένδειξης (από πιστοποιητικό διακρίβωσης Total Q)



Σχήμα 5: Ανομοιογενές προφίλ θερμοκρασιών (από πιστοποιητικό διακρίβωσης Total Q)

#### 4.5 Αξιολόγηση πιστοποιητικών διακρίβωσης θερμικών κυκλοποιητών

Τα βασικά μετρούμενα μεγέθη τα οποία πρέπει να αξιολογηθούν σε ένα πιστοποιητικό διακρίβωσης είναι η θερμοκρασιακή ομοιογένεια, η υπερβατική συμπεριφορά και η ακρίβεια ένδειξης της θερμοκρασίας. Στη βιβλιογραφία δεν αναφέρονται συγκεκριμένα κριτήρια αξιολόγησης της επίδοσης των PCRs, ενώ από του αξιολογητές των πιστοποιητικών διακρίβωσης, σε πολλές περιπτώσεις, απαιτούνται ακρίβειες οι οποίες δεν μπορούν να επιτευχθούν από τους θερμικούς κυκλοποιητές σε πραγματικές συνθήκες διακρίβωσης.

##### 4.5.1 Αξιολόγηση της ομοιομορφίας της θερμοκρασίας

Προκειμένου να αξιολογηθεί η ομοιογένεια της θερμοκρασίας του πλατό, προτείνεται ο παρακάτω πίνακας κατάταξης του υπό διακρίβωση PCR σε κατηγορίες.

Φάση / Phase	Excellent cycler	Good cycler	Moderate cycler	Poor cycler
Ramping	< 3°C	3 - 4°C	5 - 8°C	> 8°C
Plateau (95°C, 30s)	< 0,6°C	0.6 - 1°C	1 - 2°C	> 2°C

Πίνακας 1: Ταξινόμηση του θερμικού κυκλοποιητή με βάση την ανομοιογένεια της θερμοκρασίας στα διάφορα στάδια

Σημειώνεται ότι η ομοιομορφία της θερμοκρασίας στο πλατό είναι κατασκευαστικό χαρακτηριστικό και δεν μπορεί να επηρεαστεί ή να βελτιωθεί από τον χειριστή του.

#### 4.5.2 Αξιολόγηση της υπερβατικής συμπεριφοράς της θερμοκρασίας

Προκειμένου να αξιολογηθεί η υπερβατική συμπεριφορά του θερμικού κυκλοποιητή, προτείνεται ο παρακάτω πίνακας κατάταξης του υπό διακρίβωση PCR σε κατηγορίες.

<i>Max overshoot at 95° C</i>	<i>Good cycler</i>	<i>Moderate cycler</i>	<i>Poor cycler</i>
102° C	< 0,7s	0,7 - 1s	> 1s
100° C	< 2s	1 - 4s	> 4s
97.5° C	< 7s	7 - 10s	> 10s
96.5° C	< 12s	12 - 15s	> 15s

Πίνακας 2: Ταξινόμηση του θερμικού κυκλοποιητή με βάση την υπερβατική συμπεριφορά του

Στις περιπτώσεις που καταγράφεται υπερβατική συμπεριφορά η οποία δεν γίνεται αποδεκτή από τον χειριστή του κυκλοποιητή, απαιτείται η προσθήκη ενός επιπλέον βήματος στο πρωτόκολλο θερμοκρασιών, το οποίο θα έχει χρονική διάρκεια όση η διάρκεια της υπερβατικής συμπεριφοράς και θερμοκρασία μικρότερη ή μεγαλύτερη, κατά περίπτωση, και όση η υπέρβαση της θερμοκρασίας. Π.χ. στην περίπτωση που καταγράφεται υπερβατική συμπεριφορά της θερμοκρασίας κατά το στάδιο της μετάβασης στους 95°C και η οποία φτάνει τους 100°C για 5s, μπορεί να προστεθεί επιπλέον βήμα (step) θερμοκρασίας 90°C, διάρκειας 5s αμέσως πριν από το βήμα μετάβασης και παραμονής του κυκλοποιητή στους 95°C.

#### 4.5.3 Αξιολόγηση της ακρίβειας της θερμοκρασίας

Προκειμένου να αξιολογηθεί η ακρίβεια της μέσης μετρούμενης τιμής της θερμοκρασίας, προτείνεται η αξιολόγησή της με βάση τις μέγιστες επιτρεπόμενες αποκλίσεις που έχει καθορίσει ο χειριστής του οργάνου. Συνήθως στα πιστοποιητικά διακρίβωσης των κυκλοποιητών δίνονται οι μέσες, μέγιστες και ελάχιστες μετρούμενες θερμοκρασίες στα σημεία μέτρησης. Εύκολα μπορεί να διαπιστωθεί εάν το εύρος διακύμανσης των θερμοκρασιών σε όλα τα σημεία μέτρησης ικανοποιεί τις προδιαγραφές του χειριστή του κυκλοποιητή.

Στις περιπτώσεις που από το πιστοποιητικό διακρίβωσης διαπιστώνεται ότι οι μετρούμενες θερμοκρασίες είναι π.χ. μεγαλύτερες από τις επιθυμητές, τότε ο χειριστής του κυκλοποιητή οφείλει να διορθώσει τις θερμοκρασίες ρύθμισης στο πρωτόκολλο που εφαρμόζει. Π.χ., εάν από το πιστοποιητικό διακρίβωσης διαπιστωθεί ότι για θερμοκρασία ρύθμισης 60°C η διακύμανση των θερμοκρασιών στις μετρούμενες θέσεις είναι κατά μέσο όρο 62,5°C, τότε απαιτείται η διόρθωση της θερμοκρασίας στο πρωτόκολλο εργασίας από 60°C σε 57,5°C.

#### 4.5.3 Αξιολόγηση της αβεβαιότητας μέτρησης

Στα πιστοποιητικά διακρίβωσης που εκδίδονται από διαπιστευμένα εργαστήρια διακρίβωσης διαπιστώνεται ότι, σε ορισμένες περιπτώσεις, η αβεβαιότητα μέτρησης που αναφέρεται δεν περιλαμβάνει τη συνεισφορά του υπό διακρίβωση οργάνου και συνήθως έχει μικρές τιμές, ενώ σε άλλες περιπτώσεις συμπεριλαμβάνεται και η συνεισφορά του υπό διακρίβωση οργάνου και τότε λαμβάνονται σημαντικά μεγαλύτερες τιμές. Επομένως, η αβεβαιότητα της μέτρησης που αναφέρεται στα πιστοποιητικά διακρίβωσης είναι

Γ. Χατζούδης, Δ. Τέντας, TOTAL Q Εργαστήρια Διακρίβωσης Α.Ε.,

τηλ.: 210 6990064, e-mail: info@totalq.gr, www.totalq.gr

5<sup>ο</sup> Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα, 9-10 Μαΐου 2014



χρήσιμη για την αξιολόγηση του υπό διακρίβωση κυκλοποιητή μόνο όταν περιλαμβάνεται και η συνεισφορά του υπό διακρίβωση οργάνου. Η αβεβαιότητα δίνει μια συνολική εικόνα για την επίδοση του κυκλοποιητή και από μόνη της δεν μπορεί να δώσει συγκεκριμένες πληροφορίες για τις επί μέρους επιδόσεις του οργάνου.

## **5. Συμπεράσματα**

Κατά τη διακρίβωσή τους, οι θερμικοί κυκλοποιητές πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυναμικά και όχι ως στατικά συστήματα, ενώ σημαντικό είναι να λαμβάνονται υπόψη και οι συνθήκες λειτουργίας τους. Οι μετρήσεις που πραγματοποιούνται πρέπει να καλύπτουν την επιφάνεια του πλατό σε τουλάχιστον 15 θέσεις μέτρησης με τοποθέτηση των αισθητήρων μέσα στο δείγμα. Ο προσδιορισμός της ομοιογένειας ανόδου, καθόδου και σταθεροποίησης της θερμοκρασίας, της ακρίβειας του ενδεικτικού της θερμοκρασίας, της υπερβατικής συμπεριφοράς, της ταχύτητας θέρμανσης και ψύξης και της αβεβαιότητας μέτρησης πρέπει να περιλαμβάνονται στο πιστοποιητικό διακρίβωσης που εκδίδεται, ώστε να αξιοποιούνται από τον χειριστή του οργάνου για την αξιολόγηση της καταλληλότητάς του για τη σκοπούμενη χρήση.

## **6. Βιβλιογραφία**

Young Ho Kim, “Performance evaluation of thermal cyclers for PCR in a rapid cycling condition”, 2008, BioTechniques, Vol. 44, No. 4.  
CYCLERtest “Thermocycler Calibration Guide”, 2010,  
Total Q Εργαστήρια Διακριβώσεων Α.Ε., «Αρχείο Πιστοποιητικών Διακρίβωσης PCRs», 2013 & 2014.