# Laboratorio nacional de SaludCódigo:E1públicaVersión:V1En vigor el:10-10-2013Recuperar el:10-10-2015Páginas:3Firma del<br/>autorizador:-----

# 1. Máquina para PCR en tiempo real TRP89

# 2. Objetivos y objeto y campo de aplicación

Este protocolo describe cómo realizar una PCR en tiempo real con los sistemas de detección de PCR TRP89. Este POE es aplicable a todos los miembros del personal que trabajen con esta máquina.

## 3. Abreviaturas y definiciones

Consulte la terminología, abreviaturas y definiciones generales en el MC1 "General".

- TRP Sistema de detección de PCR en tiempo real TRP89
- CT Ciclo umbral
- DL Director del laboratorio
- TL Técnico de laboratorio
- tºA Temperatura ambiente
- t<sup>o</sup>F Temperatura de fusión
- ET Encargado técnico

# 4. Tareas, responsabilidades y rendiciones de cuentas

Para las autorizaciones generales consulte la matriz de autorización.

Tarea	Autorizado	Responsable
Operar la máquina según se indica en el capítulo 8 "Funcionamiento"	TL	DL
Solución de problemas básicos	TL/Experto	EEq
	técnico	
	externo	
Ponerse en contacto con el proveedor acerca de los errores (después de consultar con	EEq	DL
el DL)		
Actualizar la agenda	TL	DL
Actualizar el libro de registro "Analizador genético/máquinas de PCR"	EEq	DL

# 5. Descripción de la parte de los equipos

El sistema de detección TRP89<sup>™</sup> es un sistema de PCR en tiempo real de seis canales. Incluye un chasis termociclador X1090, módulo de reacción óptica TRP89 y software de análisis de PCR. Consulte el manual para obtener más información.

# 6. Seguridad y entorno

Consulte las instrucciones generales de seguridad en el Manual de bioseguridad.



# Laboratorio nacional de Salud pública

Código:	E1
Versión:	V1
En vigor el:	10-10-2013
Recuperar el:	10-10-2015
Páginas:	3
Firma del	L L
autorizador:	

# 7. Procedimiento de puesta en marcha (calibrado y controles) y mantenimiento

#### 7.1 Calibrado

El dispositivo se pone a prueba a sí mismo antes de que la medición comience (consulte el manual en http://www.TRP89.com).

#### 7.2 Mantenimiento

No es necesario realizar un mantenimiento del dispositivo de forma regular. El EEq toma nota de todos los fallos y las acciones realizadas en el libro de registro.

## 8. Operación

- 1. Inscríbase a tiempo en la agenda REAL TIME PCR TRP 1 + 2 (y secuenciador) con la adición de TRP 1 ó 2 y su nombre.
- 2. Encienda el ordenador (si estuviese apagado) y rellene el nombre de usuario (RtPCR) y contraseña.
- 3. Encienda la máquina TRP n.º 1 o 2. Si bajo control remoto aparece el TRP, entonces el TRP está conectado con el ordenador.
- 4. Vaya a Inicio, Sistemas específicos y haga clic en el software PCR Analysis 2.0.
- 5. En la ventana del asistente de inicio, seleccione Crear una nueva ejecución y, a continuación, haga clic en Aceptar.
- 6. Si ya se ha iniciado el software PCR Analysis 2.0, a continuación seleccione en la pestaña "Archivo"; "Nuevo"; "Ejecutar". Aparecerá la ventana de configuración de ejecución, haga clic en abrir la tapa o abra la tapa manualmente utilizando el botón abrir de la máquina TRP 1 ó 2, coloque la placa o las tiras con la orientación correcta en la máquina y a continuación haga clic cerrar la tapa (por ordenador o manualmente).
- 7. Haga clic en "Protocolo", a continuación en "Seleccionar existente" para un protocolo existente.
- 8. Para la creación de un nuevo protocolo, consulte el manual.
- 9. En la ventana "Seleccionar protocolo", la carpeta "Admin" se abrirá y luego haga clic en la carpeta correspondiente: Si una de las máquinas TRP ya está funcionando, seleccione "Escritorio", seleccione "Administrador de acceso directo" y seleccione la carpeta apropiada.

Aparecerá el siguiente protocolo:

1: 95,0 °C durante 10:00,

- 2: 95,0 °C durante 0:10,
- 3: 54,0 °C durante 0:05,
- 4: 72,0 °C durante 0:15, lectura de placa,
- 5: IR A 2, 39 veces más,
- 6: 95,0 °C durante 2:00,
- 7: 20,0 °C durante 1:00,
- 8: Curva de fundición de 70 °C a 95 °C: Incremento de 0,5 °C durante 0:10, lectura de placa, final. \* Muestra de 25  $\mu$ l de volumen, tiempo de ejecución aproximadamente 1:35:00.
- 10. Haga clic en "siguiente". En la "pestaña de placa", seleccione la "carga rápida" apropiada (por ejemplo, Quick Plate 96 pocillos todos los canales o Quick Plate 96 pocillos solo SYBR), haga clic en "Editar" para añadir o quitar fluoróforos, para cambiar el volumen de la muestra y agregar las ID (solo un fluoróforo por canal) o haga clic en "Seleccionar existente" para un diseño de placa fijado.
- 11. Haga clic en "Siguiente". En la pestaña "Inicio de ejecución", seleccione la máquina: TRP1 O TRP2.
- 12. Haga clic en "Inicio de ejecución" en la parte inferior de la ventana.



Labanatania na sianal da Calud	Código:	E1
Laboratorio nacional de Salud	Versión:	V1
pública	En vigor el:	10-10-2013
	Recuperar el:	10-10-2015
	Páginas:	3
	Firma del	<b>_</b>
	autorizador:	

- 13. Aparecerá la ventana "Guardar archivo de datos ópticos". Seleccione el archivo adecuado para guardar los datos.
- 14. La máquina empezará a funcionar automáticamente.
- 15. Cuando la máquina termine el experimento, abra la tapa, saque la placa o las tiras y cierre la tapa, deseche la placa o las tiras en el contenedor azul con tapa negra cerca de la máquina tal y como se indica en PO9 "Desecho de residuos".
- 16. Deje la máquina y el ordenador encendidos. Cierre solo el archivo de análisis de datos.

# 9. Resolución de problemas

Consulte el manual para obtener más información en caso de problemas, o consulte con la persona responsable del dispositivo o con el EEq. Cuando sea necesario, póngase en contacto con el proveedor (previa consulta con HGA/DL). Comunique todos los problemas al EEq, que registrará las acciones emprendidas en el libro de registro "Analizador genético/máquinas de PCR".

# **10.** Documentos relacionados

- MC 1 "General"
- P09 "Desecho de residuos"
- Agenda del REAL TIME TRP 1 + 2 (y secuenciador), al lado del dispositivo
- Sistemas de detección de PCR en tiempo real TRP89. Manual de instrucciones. En línea en: http://www.TRP89.com Manual de papel: al lado del dispositivo en la sala A3.
- Libro de registro "Analizador genético/máquinas de PCR", sala A3
- Manual de bioseguridad en la sala B3 (oficina del encargado de bioseguridad) B2 (Secretario), B1 (DL) y A4 (sala de pesaje).

# **11.** Formularios relacionados

- A12 formulario 01 "Hoja de trabajo SYBR verde para PCR en tiempo real"
- P43 formulario 01 "Iniciación del personal nuevo"

**12. Referencias** N/A

13. Anexos

• MC 2 Anexo 1 "Matriz de autorización"

