

Laboratoire national de santé publique

Code:	E1
Version :	V1
En vigueur à compter du :	5-11-2015
Retirée le :	5-11-2017
Pages :	3
Signature de la personne autorisée :	

1. Appareil de PCR en temps réel TRP89

2. Objectifs et portée

Ce protocole décrit comment effectuer une PCR en temps réel au moyen des systèmes de détection par PCR TRP89. La présente POS est destinée à tous les membres du personnel travaillant avec cet appareil.

3. Abréviations et définitions

Pour les abréviations générales, les définitions et la terminologie, voir MQ 1 "Généralités".

TRP	Système de détection par PCR en temps réel TRP89
Ct	Cycle seuil
RL	Responsable du laboratoire
TL	Technicien de laboratoire
TA	Température ambiante
Tf	Température de fusion
RE	Responsable de l'équipement

4. Tâches, autorisations et responsabilités

Pour les autorisations générales, se reporter à la grille d'autorisation.

Tâche	Autorisé	Responsable
Utilisation de l'appareil selon le chapitre 8 "Utilisation"	TL	RL
Dépannage - problèmes de base	TL/Expert technique externe	RE
Contacter le fournisseur au sujet des erreurs (après consultation du RL)	RE	RL
Mise à jour du calendrier d'utilisation	TL	RL
Mise à jour du carnet d'utilisation "Analyseur génétique/appareils de PCR"	RE	RL

5. Description de l'unité d'équipement

Le système de détection TRP89™ est un appareil de PCR en temps réel à six canaux. Il comprend un bloc thermocycleur X1090, un module de détection optique TRP89 et un logiciel d'analyse PCR. Voir le manuel pour plus d'informations

6. Sécurité et environnement :

Voir les instructions générales relatives à la sécurité dans le manuel de sécurité biologique.

Laboratoire national de santé publique

Code:	E1
Version :	V1
En vigueur à compter du :	5-11-2015
Retirée le :	5-11-2017
Pages :	3
Signature de la personne autorisée :	

7. Procédure de démarrage (étalonnage et témoins) et maintenance

7.1 Étalonnage

L'appareil se teste automatiquement avant de commencer les mesures (voir le manuel, <http://www.TRP89.com>).

7.2 Maintenance

Il n'est pas nécessaire d'effectuer un entretien de l'appareil sur une base régulière. Le RE note tous les dysfonctionnements et les actions entreprises dans le carnet.

8. Utilisation

1. Signer en temps voulu le calendrier d'utilisation TEMPS RÉEL PCR TRP 1 + 2 (et séquenceur) en ajoutant TRP 1 ou 2 et indiquer le nom de l'utilisateur.
2. Mettre l'ordinateur en marche (s'il est à l'arrêt) et saisir le nom de l'utilisateur (RtPCR) et le mot de passe.
3. Mettre l'appareil TRP n° 1 ou 2 en marche. Si "Contrôlé à distance" apparaît sur le TRP, cela signifie que le TRP est connecté à l'ordinateur.
4. Aller à Commencer, Systèmes spécifiques et cliquer sur Logiciel d'analyse PCR 2.0.
5. Sur l'assistant de démarrage, sélectionner Créer un nouveau cycle, puis cliquer sur OK.
6. Si le logiciel d'analyse PCR 2.0 fonctionne déjà, choisir sous l'onglet "fichier" ; "nouveau"; "cycle". La fenêtre de démarrage du cycle apparaît, cliquer sur Ouvrir le couvercle ou soulever le couvercle manuellement en utilisant le bouton Ouvrir sur l'appareil TRP 1 ou 2, ensuite placer la plaque ou les barrettes en orientation correcte dans la machine, puis cliquer sur Fermer le couvercle (avec l'ordinateur ou manuellement).
7. Cliquer sur Protocole, puis sur Sélectionner existant pour choisir un protocole existant.
8. Pour créer un nouveau protocole, voir le manuel.
9. Sur la fenêtre "Sélectionner le protocole", le dossier "Admin" s'ouvre, puis cliquer sur le dossier approprié : Si l'un des appareils TRP fonctionne déjà, choisir "Bureau", choisir "Raccourci Admin" et sélectionner le dossier approprié.

Le protocole suivant apparaît :

- 1 : 95,0°C pendant 10:00,
- 2 : 95,0°C pendant 00:10,
- 3 : 54,0°C pendant 00:05,
- 4 : 72,0°C pendant 0:15, lecture de la plaque,
- 5 : ALLER À 2, 39 fois supplémentaires,
- 6 : 95,0°C pendant 02:00,
- 7 : 20,0°C pendant 01:00,
- 8 : Courbe de fusion de 70°C à 95°C : Incrément 0,5°C pendant 0:10, Lecture de la plaque, Fin.

* Volume d'échantillon 25 µl, durée du cycle approximativement 1:35:00.

10. Cliquer sur "Suivant". Sur "onglet plaque", choisir l'option appropriée dans "exprimer charge", (par exemple, Quick Plate à 96 puits, tous les canaux ou Quick Plate à 96 puits seulement SYBR), cliquer sur "éditer" pour ajouter ou retirer des fluorophores, pour modifier le volume d'échantillon et ajouter des identifiants (seulement un fluorophore par canal) ou cliquer sur "Sélectionner existant" pour un modèle de plaque fixé.
11. Cliquer sur "Suivant". Sous l'onglet "Commencer le cycle", choisir l'appareil : TRP1 OU TRP2.

Laboratoire national de santé publique

Code:	E1
Version :	V1
En vigueur à compter du :	5-11-2015
Retirée le :	5-11-2017
Pages :	3
Signature de la personne autorisée :	

12. Cliquer sur "Commencer le cycle" en bas de la fenêtre.
13. La fenêtre "Sauvegarder le fichier de données optiques" apparaît. Choisir le fichier approprié pour sauvegarder les données.
14. L'appareil démarrera automatiquement.
15. Lorsque l'appareil a terminé, ouvrir le couvercle, retirer la plaque ou les barrettes puis refermer le couvercle, éliminer la plaque ou les barrettes dans le conteneur bleu avec un couvercle noir près de l'appareil selon P09 "Élimination des déchets".
16. Ne pas arrêter l'appareil ni l'ordinateur. Fermer uniquement son fichier d'analyse des données.

9. Dépannage

Rechercher dans le manuel plus d'informations en cas de problèmes, ou s'adresser à la personne responsable de l'appareil et/ou au RE. Si nécessaire, contacter le fournisseur (après avoir consulté le spécialiste de l'analyse génétique de l'hôpital/le RL). Communiquer tous les problèmes au responsable de l'équipement (RE), qui consignera les actions entreprises dans le carnet d'utilisation "Analyseur génétique/appareil PCR".

10. Documents connexes

- MQ 1 "Généralités"
- P09 "Élimination des déchets"
- Calendrier d'utilisation TRP 1 + 2 TEMPS RÉEL (et séquenceur), près de l'appareil
- Systèmes de détection par PCR en temps réel TRP89. Manuel d'utilisation. En ligne sur : <http://www.TRP89.com>
Version imprimée : près de l'appareil dans la salle A3.
- Carnet d'utilisation "Analyseur génétique/appareil PCR", salle A3
- Manuel de sécurité biologique dans la salle B3 (Bureau du responsable de la sécurité biologique) B2 (Secrétaire), B1 (RL) et A4 (salle des pesées).

11. Formulaires connexes

- A12 formulaire 01 "Feuille d'utilisation PCR en temps réel SYBR Green"
- P43 formulaire 01 "Insertion de nouveaux membres du personnel"

12. Références

Sans objet

13. Pièces jointes

- MQ 2 annexe 1 "Grille d'autorisation"