MANUEL TECHNIQUE

OncoMate® 5C Matrix Standard

Mode d'emploi du produit
MD3850

PROMEGA
2800 Woods Hollow Rd.
Madison, WI USA

EU REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hanovre, Allemagne

CE 2797

MODE D'EMPLOI
DU PRODUIT
MD3850

IVD

Rév1
TM597

OncoMate® 5C Matrix Standard

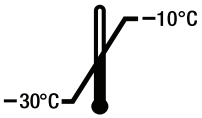
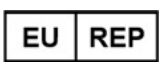
1. Nom du produit 3
2. Usage prévu 3
3. Résumé et explication 3
4. Principe de test 3
5. Composants du produit et conditions de stockage 4
   - 5.1 Matériel fourni 4
   - 5.2 Stockage et manipulation 4
   - 5.3 Matériel non fourni 5
6. Exigences relatives à l'appareil d'électrophorèse capillaire 6
7. Préparation de l'appareil d'électrophorèse capillaire 6
8. Analyse de la matrice étalon 6
9. Interprétation des résultats 8
10. Dépannage 9
11. Produits associés 11
12. Récapitulatif des modifications 11

Date de révision TM597 : 7/26

Version : Rév1

Promega

Légende des symboles

Symbole	Explication	Symbole	Explication
	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Numéro de lot
	Stocker entre –30 °C et –10 °C		Fabricant
	Ne pas réutiliser		Irritant
	Référence		Contenu suffisant pour <n> tests
	Date limite d'utilisation		Protéger de la lumière
	Consulter le mode d'emploi		Représentant agréé
	Conformité Européenne		

1. Nom du produit

OncoMate® 5C Matrix Standard

Réf. MD3850

2. Usage prévu

L'OncoMate® 5C Matrix Standard est un accessoire pour dispositif médical IVD à utiliser avec l'OncoMate® MSI Dx Analysis System (Cat.# MD3140). La matrice étalon s'utilise pour la calibration spectrale des appareils d'électrophorèse capillaire avant l'analyse des produits d'amplification générés avec l'OncoMate® MSI Dx Analysis System. Ce produit est destiné à un usage professionnel uniquement.

3. Résumé et explication

L'OncoMate® MSI Dx Analysis Systemutilise la PCR (amplification en chaîne par polymérase) multiplex pour générer des fragments d'ADN marqués de trois fluorochromes différents : fluorescéine, JOE et TMR-ET. Pendant l'analyse par électrophorèse capillaire, les fragments d'ADN marqués par fluorescence sont séparés et détectés par l'appareil en même temps que le Size Standard 500 marqué par le fluorochrome WEN. Avant l'analyse, il convient de calibrer l'appareil d'électrophorèse capillaire à l'aide de l'OncoMate® 5C Matrix Standard afin de distinguer les signaux fluorescents des fluorochromes spécifiquement utilisés. L'OncoMate® 5C Matrix Standard[a,b] se compose de fragments d'ADN marqués de cinq fluorochromes différents (fluorescéine, JOE, TMR-ET, CXR-ET et WEN) dans un même tube. La calibration spectrale s'effectue conformément aux consignes du fabricant de l'appareil.

Se reporter au guide de l'utilisateur fourni par le fabricant pour connaître les procédures de maintenance de l'appareil. Par exemple, il faut procéder à une nouvelle calibration spectrale après chaque procédure de maintenance importante effectuée sur le système d'électrophorèse capillaire, comme après avoir changé la source d'excitation (laser, par ex.), étalonné ou remplacé la caméra CCD, ou modifié le type de polymère ou le réseau capillaire. Il faut également procéder à une nouvelle calibration spectrale si l'on observe des pics d'infiltration qui interfèrent avec l'analyse des données.

4. Principe de test

Au cours de la phase de collecte des données d'un appareil d'électrophorèse capillaire, des fragments d'ADN marqués par des fluorochromes sont exposés à une source lumineuse et émettent de la lumière sur plusieurs longueurs d'onde. Ces émissions sont captées par une caméra intégrée afin d'effectuer une analyse plus poussée. Plusieurs fluorochromes sont utilisés pour permettre la détection simultanée de fragments d'ADN de taille similaire.

Les fluorochromes utilisés par l'OncoMate® MSI Dx Analysis System ont chacun une émission lumineuse maximale dont la longueur d'onde est unique, mais ils émettent de la lumière sur toute une gamme de longueurs d'onde. Lorsque les émissions spectrales de ces fluorochromes se chevauchent, cela entrave l'identification du fluorochrome qui est la source de l'émission et cela nuit à l'analyse des données. Le logiciel d'analyse de l'appareil doit donc distinguer les spectres d'émission des fluorochromes pour analyser les données microsatellites résultant de l'utilisation de plusieurs fluorochromes.

4. Principe de test (suite)

Un étalon, ou une matrice étalon, de calibration spectrale se compose de fragments d'ADN marqués par fluorescence et analysés pendant une calibration spectrale. Le logiciel collectant les données d'électrophorèse capillaire analyse les spectres d'émission de ces fragments marqués par fluorescence pour caractériser le chevauchement spectral et créer une matrice de déconvolution à plusieurs composants spécifique à chaque capillaire du réseau calibré. La matrice de déconvolution est automatiquement appliquée aux données brutes de l'échantillon lors des analyses ultérieures, pour isoler et attribuer la fluorescence observée au niveau de chaque fluorochrome individuel.

5. Composants du produit et conditions de stockage

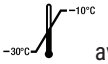
5.1 Matériel fourni

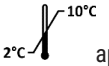
Σ 5

Ce produit contient suffisamment de réactifs pour réaliser cinq calibrations spectrales. Les éléments suivants sont fournis :

COMPOSANT	TAILLE	RÉF.
5C Matrix Mix	**150 µl**	**MD430A**

Inclut : fragments d'ADN marqués par fluorescence

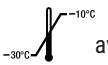
Conditions de stockage : zone de postamplification ; 

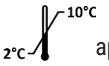
avant utilisation ; 

après la première utilisation. Protéger de la lumière.

COMPOSANT	TAILLE	RÉF.
Matrix Dilution Buffer	**5 × 200 µl**	**MD191A**

Inclut : tampon à base de Tris-EDTA

Conditions de stockage : zone de postamplification ; 

avant utilisation ; 

après la première utilisation.

5.2 Stockage et manipulation

Stocker l'OncoMate® 5C Matrix Standard avec les réactifs de postamplification. Dès réception, stocker tous les composants à une température comprise entre –30 °C et –10 °C dans un congélateur sans fonction antigivre, à l'abri de la lumière. Ne pas entreposer les réactifs dans la porte du congélateur à cause des variations de température. Après la première utilisation, stocker les composants de l'OncoMate® 5C Matrix Standard entre 2 et 10 °C, à l'abri de la lumière, jusqu'à 3 mois. L'OncoMate® 5C Matrix Standard est un produit photosensible ; diluer le 5C Matrix Mix dans le Matrix Dilution Buffer dans le tube ambre fourni. Stocker le 5C Matrix Mix dilué à une température comprise entre 2 et 10 °C pendant 6 jours maximum.

Remarque : ne pas recongeler les composants de l'OncoMate® 5C Matrix Standard.

5.3 Matériel non fourni

Réactifs de laboratoire

- Hi-Di™ Formamide (par ex. Applied Biosystems Cat.# 4404307)

Il convient d'utiliser du Hi-Di™ Formamide pour les calibrations spectrales effectuées avec l'OncoMate® 5C Matrix Standard. Congeler le formamide en aliquots à –20 °C. Des cycles répétés de congélation-décongélation ou un stockage à long terme à 4 °C peuvent provoquer la dégradation du formamide.



Le formamide est un irritant et un tératogène. Éviter l'inhalation et le contact avec la peau. Lire l'étiquette d'avertissement et prendre les précautions appropriées lors de la manipulation de cette substance. Porter des gants, des vêtements de protection et des lunettes de sécurité lors de l'exécution des protocoles ci-dessous.

Le fait de ne pas respecter les protocoles recommandés pour le stockage des réactifs de calibration spectrale, l'exécution de la calibration spectrale ou l'acceptation/le rejet des résultats de la calibration spectrale peut entraîner des pics d'infiltration (« interférence spectrale ») pendant l'analyse de l'électrophorèse capillaire des produits d'amplification de l'OncoMate® MSI Dx Analysis System. Les pics d'infiltration peuvent obscurcir les résultats du test ou compliquer l'interprétation des données.

Équipement de laboratoire

- Jeu de pipettes de précision étalonnées, d'une capacité de 1 µl à 1 000 µl
- Cônes de pipettes résistants à l'aérosol (de 10 µl à 1 000 µl)
- Tube microcentrifuge de 1,5 ml
- Centrifugeuse compatible avec plaque de réaction à 96 puits (par ex., centrifugeuse pour microplaques)
- Supports pour microtubes à centrifuger
- Agitateur vortex
- Congélateur sans fonction antigivre entre –30 °C et –10 °C
- Réfrigérateur entre 2 °C et 10 °C

Instruments et accessoires

- Appareil d'électrophorèse capillaire et fournitures associées, y compris polymère, réseau, tampons, eau et articles d'entretien recommandés par le fabricant de l'appareil.
- MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate (par ex., ThermoFisher Cat.# 4306737).

6. Exigences relatives à l'appareil d'électrophorèse capillaire

Les produits d'amplification du OncoMate® MSI Dx Analysis System sont séparés et analysés par électrophorèse capillaire après calibration spectrale avec l'OncoMate® 5C Matrix Standard. Les performances de l'OncoMate® 5C Matrix Standard et de l'OncoMate® MSI Dx Analysis System ont été évaluées à l'aide de l'Applied Biosystems® 3500 Dx Genetic Analyzer réglé sur les paramètres d'analyse de fragments et configuré avec du POP-7® Polymer et un réseau de capillaires de 50 cm. Les appareils compatibles avec l'OncoMate® MSI Dx Analysis System et l'OncoMate® 5C Matrix Standard auront les caractéristiques communes suivantes :

Nombre de fluorochromes détectés : ≥5

Longueur du réseau capillaire : des longueurs de réseau adaptées à une résolution de base unique, y compris 50 cm

Matrice de séparation : POP-7® Polymer ou un équivalent

Longueur d'onde d'excitation (approximative) : de 480 nm à 520 nm

Optique de détection : les fluorochromes Promega exigent un captage des émissions entre 500 nm et 630 nm, approximativement

Plage de résolution : résolution 1 bp de 60 bp à ≥300 bp

Précision des mesures (répétabilité, exprimée en écart-type) : ≤0,15 bp sur une plage de 60 bp à ≥300 bp

7. Préparation de l'appareil d'électrophorèse capillaire

Suivre les consignes du fabricant concernant le fonctionnement et l'entretien de l'appareil d'électrophorèse capillaire sélectionné. Il convient d'effectuer la calibration spectrale avec le même type de polymère d'électrophorèse capillaire et de réseau qui seront utilisés pour l'analyse des produits d'amplification de l'OncoMate® MSI Dx Analysis System.

1. S'assurer que le polymère et les tampons de l'appareil ne sont pas périmés et qu'un nombre suffisant d'échantillons ou d'injections sont disponibles pour effectuer la calibration.
2. Le cas échéant, préchauffer le four du système d'électrophorèse capillaire conformément aux consignes du fabricant pendant au moins 30 minutes avant de démarrer un cycle.
3. Il peut être nécessaire d'effectuer la calibration spatiale de l'appareil avant de procéder à la calibration spectrale. Pour plus d'informations, consulter le mode d'emploi de l'appareil sélectionné. Si l'appareil d'électrophorèse capillaire nécessite une calibration spatiale et qu'elle n'a pas encore été effectuée, il faut la faire dès maintenant.

   Remarque : nous vous recommandons d'utiliser un nouveau réseau de capillaires ainsi qu'un polymère et un tampon frais pour obtenir de meilleurs résultats.

8. Analyse de la matrice étalon

1. Lors de la première utilisation, décongeler complètement le 5C Matrix Mix et le Matrix Dilution Buffer. Après la première utilisation, stocker les réactifs entre 2 et 10 °C, à l'abri de la lumière.
2. Agiter le 5C Matrix Mix dans l'agitateur vortex pendant 10 à 15 secondes à vitesse maximale. Ajouter 10 µl de 5C Matrix Mix à un tube de Matrix Dilution Buffer. Agiter pendant 10 à 15 secondes à la vitesse maximale. Inscrire la date de dilution sur le tube.

   Remarque : le 5C Matrix Mix dilué peut être stocké à une température comprise entre 2 et 10 °C pendant 6 jours maximum.

3. Ajouter 10 µl de 5C Matrix Mix dilué (préparé pendant l'étape 2) à 500 µl de Hi-Di™ Formamide. Agiter pendant 10 à 15 secondes à la vitesse maximale.
4. Ajouter 15 µl de mélange formamide-Matrix (préparé à l'étape 3) dans chacun des puits que le réseau de capillaires échantillonnera pendant la calibration spectrale. Le nombre de puits nécessaires pour la calibration spectrale dépend de l'appareil et du réseau spécifiquement sélectionnés pour l'analyse en aval des produits d'amplification de l'OncoMate® MSI Dx Analysis System.
5. Couvrir la plaque conformément aux consignes du fabricant et centrifuger brièvement la plaque pour attirer le mélange au fond de chaque puits et éliminer les bulles d'air.

Remarque : ne pas dénaturer à la chaleur la plaque à 96 puits qui contient le mélange formamide-Matrix. Jeter le mélange formamide-Matrix non utilisé.

6. Charger la plaque sur l'appareil d'électrophorèse capillaire sélectionné et procéder à la calibration spectrale conformément aux consignes du mode d'emploi de l'appareil. Le Tableau 1 indique les réglages à utiliser pour effectuer la calibration spectrale avec l'OncoMate® 5C Matrix Standard. Certains des réglages décrits dans le Tableau 1 peuvent ne pas s'appliquer à toutes les plates-formes d'appareils d'électrophorèse capillaire. Consulter le mode d'emploi de l'appareil d'électrophorèse capillaire ou contacter la filiale ou le distributeur local de Promega, ou envoyer un e-mail à : **genetic@promega.com** pour plus d'informations.

   Remarque : il faudra créer un nouveau jeu de fluorochromes avant d'effectuer la première calibration spectrale avec l'OncoMate® 5C Matrix Standard. Utiliser comme modèle un jeu de fluorochromes spécifiques à ceux utilisés dans la matrice étalon (fluorescéine, JOE, TMR-ET, CXR-ET et WEN) ou un jeu de fluorochromes génériques (« AnyDye » ou un équivalent, par ex.). L'utilisation d'un jeu de fluorochromes inadapté à la calibration spectrale peut entraîner une diminution de l'équilibre fluorochromes-signaux dans les fragments détectés pendant l'analyse.

Tableau 1. Réglages à utiliser pour la calibration spectrale avec l'OncoMate® 5C Matrix Standard.

Catégorie	Réglages
Nombre de fluorochromes (c.-à-d. de couleurs)	5
Jeu de fluorochromes	Jeu de fluorochromes spécifiques[1], AnyDye ou équivalent
Ordre des fluorochromes	1, orange ; 2, rouge ; 3, jaune ; 4, vert ; 5, bleu
Valeur de qualité minimale	0,95
Valeur de chevauchement maximale	8,0
Sensibilité	0,4
Localiser le point de départ après analyse	300
Localiser le point de départ avant analyse	5 000
Limiter les analyses à	6 500

[1]Jeu de fluorochromes spécifiquement conçu pour fluorescéine, JOE, TMR-ET, CXR-ET et WEN.

9. Interprétation des résultats

1. Une fois la calibration spectrale terminée, examiner ses résultats. Pour chaque capillaire, vérifier la valeur de qualité et la valeur de chevauchement de la calibration spectrale et examiner les données d'émission spectrale affichées. Les capillaires acceptables auront une valeur de qualité de ≥0,95 et une valeur de chevauchement ≤8,0. S'assurer que l'ordre (de gauche à droite) des pics de fragment dans l'affichage Intensité vs. Nbre d'analyses est : orange, rouge, jaune, vert et bleu (Figure 1, Panneau A). S'assurer que l'ordre (de gauche à droite) des signaux de fluorochromes dans l'affichage des spectres d'émission est : bleu, vert, jaune, rouge et orange (Figure 1, Panneau B).

   Remarque : la valeur de qualité de chaque capillaire d'une calibration spectrale acceptée est typiquement ≥0,98.

2. Accepter la calibration spectrale si tous les capillaires ont été acceptés et que les données d'émission correspondantes se sont affichées correctement. Autrement, rejeter la calibration spectrale et se reporter à la Section 10, Dépannage.

   Remarque : si l'on a utilisé une option « d'emprunt » pendant la calibration spectrale, consulter le mode d'emploi de l'appareil d'électrophorèse capillaire pour connaître le nombre requis de capillaires acceptés.

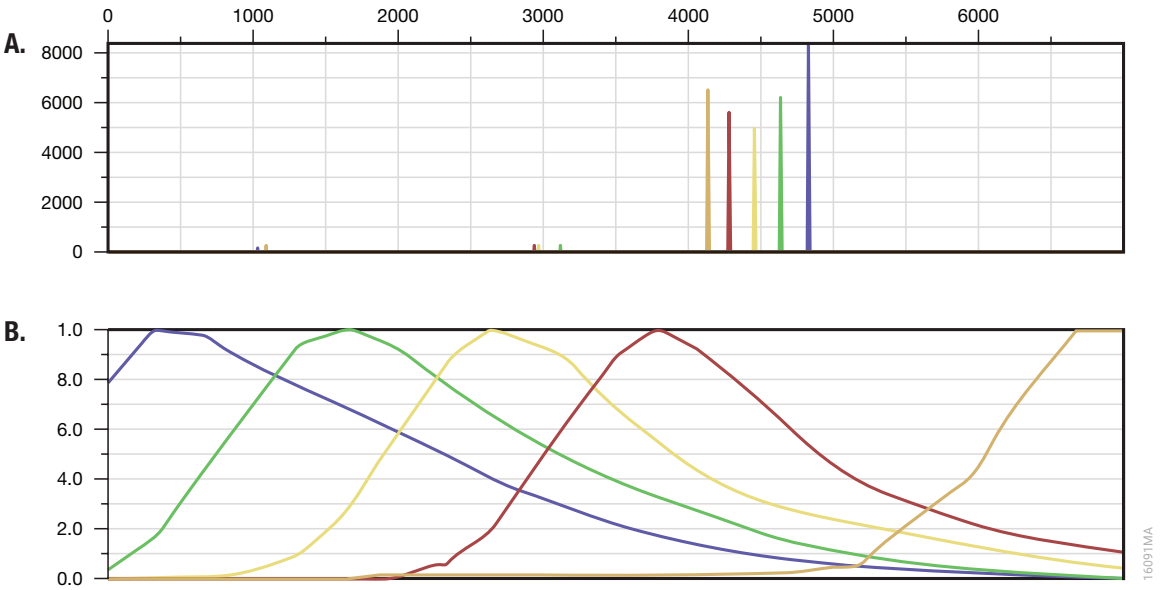


Figure 1. Données représentatives pour l'OncoMate® 5C Matrix Standard. Panneau A. Pics de fragments résolus. **Panneau B.** Spectres d'émission des fluorochromes.

10. Dépannage

Pour toute question qui n'est pas abordée ici, consulter le mode d'emploi de l'appareil d'électrophorèse capillaire ou contacter la filiale ou le distributeur local de Promega. Les coordonnées sont disponibles à l'adresse : **www.promega.com** ; e-mail : **genetic@promega.com**.

Symptômes	Causes et commentaires
Détection d'une pointe du signal d'électrophorèse capillaire ou d'une erreur dans l'ordre des fluorochromes.	Présence de contaminants ou de dépôts cristallins dans le polymère. S'assurer que le polymère nouvellement ajouté est porté à température ambiante conformément aux consignes du fabricant. Refaire la calibration spectrale. Si nécessaire, remplacer le polymère.
	Présence de bulles dans le système fluidique. Consulter le manuel de l'appareil d'électrophorèse capillaire pour déterminer comment éliminer les bulles dans le système fluidique de l'appareil, puis refaire la calibration spectrale.
Échec de la calibration spectrale ou de détection d'un signal.	Une erreur s'est produite au niveau de l'ordinateur. Redémarrer l'appareil d'électrophorèse capillaire et son ordinateur conformément aux consignes du fabricant. Refaire la calibration spectrale.
	L'appareil n'a pas été préchauffé correctement. Si nécessaire, s'assurer que le four de l'appareil a été préchauffé à 60 °C pendant au moins 30 minutes avant l'étalonnage. Refaire la calibration spectrale.
	Les consommables de l'appareil étaient périmés ou leur qualité a été compromise. Pour obtenir les meilleurs résultats de calibration spectrale, utiliser du polymère et des tampons frais et un réseau de capillaires ayant subi moins de 100 injections.
	Un mauvais jeu de fluorochromes a été sélectionné pour la calibration spectrale ou bien les réglages de calibration spectrale pour ce jeu de fluorochromes ont été mal paramétrés. S'assurer qu'un jeu de 5 fluorochromes est utilisé et que les réglages d'analyse du jeu de 5 fluorochromes sont paramétrés correctement (voir le Tableau 1).
	Les pics de fragments détectés pendant la calibration spectrale étaient soit en trop faible quantité, soit incorrects. Présence de résidus provenant de la ou des injections précédentes, ou réactifs de la matrice périmés ou mal conservés. Le cas échéant, refaire la calibration spectrale en utilisant des réactifs correctement stockés ou non périmés. Il peut être nécessaire d'effectuer une injection à blanc (Hi-Di™ Formamide uniquement) avant de refaire la calibration spectrale.
	L'OncoMate® 5C Matrix Standard a été mal préparée. Préparer du 5C Matrix Mix fraîchement dilué selon les consignes de la Section 8, puis réaliser une nouvelle calibration spectrale.
	L'OncoMate® 5C Matrix Standard était périmée ou s'est détériorée en raison d'un stockage inadéquat. Vérifier la date de péremption et les conditions de stockage de la matrice étalon. Si nécessaire, refaire la calibration spectrale avec des réactifs non périmés et correctement conservés.

10. Dépannage (suite)

Symptômes	Causes et commentaires
Échec de la calibration spectrale ou de détection d'un signal. (suite)	Un ou plusieurs capillaires étaient bloqués. Remplir à nouveau le réseau de capillaires et refaire la calibration spectrale. Installer un nouveau réseau de capillaires, si nécessaire.
	La matrice étalon était surdiluée. Une matrice étalon surdiluée provoquera des pics de calibration spectrale bas pouvant entraîner l'échec de la calibration. Refaire la calibration spectrale en s'assurant que le 5C Matrix Mix a été suffisamment agité avant utilisation et que le 5C Matrix Mix dilué et le Hi-Di™ Formamide sont en proportions adéquates. Si nécessaire, augmenter le volume du 5C Matrix Mix ajouté au formamide pendant la préparation de l'échantillon.
	La matrice étalon était surconcentrée. Une matrice étalon surconcentrée provoquera des pics de calibration spectrale excessivement élevés. Des pics excessivement élevés peuvent entraîner une infiltration ou une soustraction excessive au niveau des autres fluorochromes et l'échec de la calibration spectrale. Si nécessaire, diminuer le volume du 5C Matrix Mix ajouté au formamide pendant la préparation de l'échantillon. Refaire la calibration spectrale en s'assurant que le 5C Matrix Mix a été suffisamment agité avant utilisation et que le 5C Matrix Mix et le Hi-Di™ Formamide sont en proportions adéquates.
	Du formamide de mauvaise qualité a été utilisé. La qualité du formamide est extrêmement importante. Utiliser uniquement du Hi-Di™ Formamide avec l'OncoMate® 5C Matrix Standard. Après la première utilisation, congeler le formamide en aliquots à –20 °C. Des cycles répétés de congélation-décongélation ou un stockage à long terme à 4 °C peuvent provoquer la dégradation du formamide. Un formamide de mauvaise qualité ou exposé à des cycles répétés de congélation-décongélation contient des ions qui entrent en compétition avec l'ADN pendant l'injection. Cela se traduit par une diminution de la hauteur des pics et une sensibilité réduite lors de l'électrophorèse capillaire.
	Les extrémités des capillaires n'étaient pas en contact avec la matrice étalon. S'assurer que chacun des 96 puits de la plaque contient 15 µl de mélange formamide-Matrix et que la plaque a été centrifugée assez longtemps avant de démarrer la calibration spectrale.

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif qui a entraîné, ou pourrait entraîner, le décès ou une grave blessure d'un utilisateur ou patient doit être signalé immédiatement au fabricant. Les utilisateurs installés dans l'Union Européenne devraient également signaler tout incident grave à l'Autorité Compétente de l'État Membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Un résumé de la sécurité et des performances (SSP) de ce produit est disponible, conformément à l'article 29 de la réglementation (UE) 2017/746. Ce SSP sera accessible au public dans EUDAMED une fois qu'EUDAMED sera entièrement fonctionnel. D'ici là, ce document est disponible sur demande directe auprès de Promega.

11. Produits associés

Produit	Taille	Cat.#
OncoMate® MSI Dx Analysis System	100 réactions	MD3140

12. Récapitulatif des modifications

1. Ajout de la Section 12.
2. Insertion de deux paragraphes à la fin de la Section 10.
3. Mise à jour du symbole de Représentant agréé.
4. Remplacement du symbole de marque par le symbole de marque déposée pour OncoMate.
5. Remplacement de l'image de couverture et mise à jour de la police du document.

Date de révision TM597 : 7/26

Version : Rév1

[a]Numéro de brevet américain 9 139 868, numéro de brevet européen 2972229, et autres brevets en attente.

[b]Les fluorochromes TMR-ET, CXR-ET et WEN sont exclusifs.

© 2019–2026 Promega Corporation. Tous droits réservés.

OncoMate est une marque déposée de Promega Corporation.

Applied Biosystems est une marque déposée d'Applied Biosystems. Hi-Di est une marque déposée d'Applera Corporation. MicroAmp et POP-7 sont des marques déposées de Thermo Fisher Scientific.

Les produits peuvent être couverts par des brevets publiés ou en attente d'approbation ou peuvent présenter certaines limites. Veuillez consulter notre site Web pour plus d'informations. Tous les prix et spécifications peuvent être modifiés sans préavis.

Les allégations concernant les produits peuvent être modifiées. Veuillez contacter Promega Technical Services ou accéder au catalogue en ligne de Promega pour bénéficier des informations les plus récentes sur les produits Promega.