

A transmettre aux Directeurs des Etablissements de Santé,
des Responsables de Laboratoire et des Correspondants locaux de Réactovigilance

RECOMMANDATION IMPORTANTE

Dosages Abbott RealTime HIV-1 et HCV TM Sur *m2000rt* (référence : 02G31 et 04J86)

Madame, Monsieur,

Cette information concerne les laboratoires qui préparent **manuellement** la plaque de PCR pour le *m2000rt*.

Des investigations ont révélé que l'introduction de bulles au cours de la préparation des microplaques de réactions de PCR était responsable d'une suppression des courbes d'amplifications, susceptible de générer les codes erreurs « 4453 » et « 4457 ». ce phénomène peut se traduire par des résultats erronés de quantification d'ARN viral notamment si le contrôle interne n'est pas affecté.

Dans le but de résoudre ce phénomène, des modifications mineures sont introduites dans les protocoles des dosages Abbott RealTime HIV-1 et HCV.

Les nouvelles modifications concernent tous les laboratoires qui préparent manuellement les microplaques de réactions de PCR pour l'automate *m2000rt*.

Par conséquent, en accord avec l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS), **nous vous demandons** de suivre scrupuleusement les instructions suivantes :

1. Prendre des précautions afin d'éviter l'introduction de bulles d'air. Les informations suivantes sont essentielles à la préparation des micro-plaques :
 - a) ne pas introduire d'air au moment de la distribution des réactifs et des éluats ou lorsque vous les mélangez.
 - b) lors de la distribution du master mix dans les puits, veillez à toucher le bord du puits avec la pointe du cône.
 - c) lors de la distribution de l'éluat dans le master mix, ne toucher la surface du liquide avec la pointe du cône que légèrement.
 - d) lors des étapes de mélange, laisser le bout du cône immergé dans le puits et aspirer puis refouler doucement le mélange réactionnel 3 à 5 fois .
 - e) retirer la pipette du puits avec précaution en évitant toute introduction d'air .
 - f) Note : si vous constatez des bulles dans les puits, ne pas essayer de les enlever car une étape de centrifugation réduira la présence de bulles résiduelles.

2. Après avoir scellé la microplaque, réaliser l'étape de centrifugation. La centrifugeuse doit être capable d'atteindre une accélération d'au moins 2000 g à température ambiante pendant 5 minutes et avoir la capacité d'accueillir une plaque de 96 puits. Si vous ne possédez pas de centrifugeuse de ce type, veuillez contacter votre représentant Abbott.

Si vous avez une telle centrifugeuse :

- a) Placer la microplaque encore munie de son support dans la centrifugeuse. Celle ci peut être localisée soit dans l'aire de préparation des échantillons soit dans l'aire d'amplification.
- b) Placer la plaque et son support dans le portoir pour microplaques de la centrifugeuse.
- c) Centrifuger pendant 5 minutes à 2000 g minimum (l'augmentation du temps de centrifugation n'est pas recommandé).
- d) Une fois la centrifugation terminée, reprenez le protocole du dosage comme indiqué dans la notice.

Pour les laboratoires travaillant actuellement avec une extraction automatique (M1000), il est important de savoir que l'utilisation du m2000sp va réduire ce phénomène. En effet, le *m2000sp* possède un système complètement automatisé de préparation d'échantillon, de distribution du master mix et des éluats directement dans la plaque de réaction réduisant ainsi la présence de bulles dans cette dernière. La modification de votre instrument en m2000sp est en cours ou se fera prochainement dans votre laboratoire.

Pour tout renseignement supplémentaire, veuillez contacter commercial Abbott.

Nous vous remercions de l'attention que vous porterez à ce courrier et vous prions d'agréer, Madame, Monsieur, l'expression de nos salutations distinguées.

Alexandra MISSANA
Assistante Assurance Qualité

FA-AM-DEC2005-001