



**Mast Group Ltd.**  
Mast House, Derby Road, Bootle  
Liverpool, Merseyside, L20 1EA  
United Kingdom  
Tel: + 44 (0) 151 472 1444  
Fax: + 44 (0) 151 944 1332  
email: sales@mast-group.com  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostica GmbH**  
Feldstrasse 20  
DE-23858 Reinfeld  
Germany  
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0  
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68  
email: mast@mast-diagnostica.de  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostic**  
12 rue Jean-Jacques Mention  
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1  
France  
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67  
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22  
email: info@mast-diagnostic.fr  
Web: www.mast-group.com



## MAST ISOPLEX® CRE-ART

POUR LA RECHERCHE ET LE DIAGNOSTIC IN VITRO

### DNA/LYO5 10 tests.

#### Utilisation prévue

Le kit MAST ISOPLEX® CRE-ART est un kit de diagnostic in vitro à usage professionnel. Il est basé sur la technologie d'amplification isotherme à médiation par boucle (LAMP) pour la détection qualitative et la différenciation des Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE) et d'autres bactéries résistantes aux carbapénèmes isolées par culture pendant une nuit à partir d'un échantillon clinique.

#### Principes de la méthode d'analyse

Le MAST ISOPLEX® CRE-ART est destiné à la détection qualitative et à la différenciation des ADN OXA-48, OXA-23, OXA-24 / OXA-40, KPC, VIM, NDM et IMP. Le test comprend une barrette de 8 tubes où chaque tube individuel est destiné à l'un des ADN spécifiques ciblés (sept des huit tubes). Un ADN de contrôle d'inhibition est fourni dans le kit et doit être ajouté avant le début du test. Le test de contrôle d'inhibition est conduit dans le tube 8 de la barrette de 8 tubes pour identifier une éventuelle inhibition de l'amplification de l'ADN dans l'échantillon et pour confirmer l'intégrité des réactifs du test.

Le test LAMP implique l'utilisation d'amorces spécifiques de 8 régions distinctes de l'ADN cible, une ADN polymérase avec activité par déplacement de brin, des substrats et un colorant fluorochrome intercalant à température constante (63°C pour MAST ISOPLEX® CRE-ART). En raison de la haute spécificité de la technique LAMP, la présence du produit amplifié peut indiquer la présence de l'ADN cible en 30 minutes.

#### Composants

Tableau 1 : Composants du kit

Code du Kit	Contenu	Nombre	Volume	Couleur du couvercle	Information supplémentaire sur l'emballage
ADN IC	ADN de contrôle d'inhibition	1 tube	Culot clair déshydraté	Vert	Contenu dans une pochette refermable avec 2 sachets dessiccants
RB3	Tampon de reconstitution	1 tube	1,5 mL	Orange	Le tube est maintenu dans un insert ajusté sur mesure
WTR	Eau de qualité moléculaire	1 tube	1,5 mL	Noir	Le tube est maintenu dans un insert ajusté sur mesure
CRE STRIP	Culot réactionnel du test LAMP spécifique des cibles.	10 barrettes de 8 tubes. Chaque tube numéroté individuellement (1 à 8)	Culot blanc	Transparent	Les barrettes CRE STRIP sont emballées individuellement dans une pochette revendable contenant 2 sachets dessiccants

Chaque numéro de tube CRE STRIP indique la cible spécifique détectée, comme décrit dans le tableau 2.

Tableau 2 : Définition des tubes CRE STRIP

Numéro de tube	Cible détectée
1	OXA-48
2	OXA-23
3	OXA-24 / OXA-40
4	KPC
5	VIM
6	NDM
7	IMP
8	Contrôle d'inhibition



**Mast Group Ltd.**  
Mast House, Derby Road, Bootle  
Liverpool, Merseyside, L20 1EA  
United Kingdom  
Tel: + 44 (0) 151 472 1444  
Fax: + 44 (0) 151 944 1332  
email: sales@mast-group.com  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostica GmbH**  
Feldstrasse 20  
DE-23858 Reinfeld  
Germany  
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0  
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68  
email: mast@mast-diagnostica.de  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostic**  
12 rue Jean-Jacques Mention  
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1  
France  
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67  
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22  
email: info@mast-diagnostic.fr  
Web: www.mast-group.com



## Équipement supplémentaire requis

1. Instrument de PCR en temps réel ou équipement appropriés permettant l'amplification isotherme de l'ADN et la détection du produit amplifié par fluorescence (voir le tableau 3 pour connaître les instruments pouvant être utilisés avec MAST ISOPLEX<sup>®</sup> CRE-ART).
2. Milieux de culture microbiologique pour l'isolement de la croissance de colonies uniques à partir d'un échantillon de patient (voir le tableau 3 pour connaître les milieux de culture utilisés pour l'isolement de colonies à partir d'un échantillon lors du développement de MAST ISOPLEX<sup>®</sup> CRE-ART).
3. Tubes de réaction de 1,5 mL sans nucléase à utiliser pour la remise en suspension de la colonie isolée (voir Procédure d'analyse)
4. Centrifugeuse de bureau avec rotor pour contenir les tubes de réaction 1,5 mL.
5. Centrifugeuse à plaques ou microfuge/centrifugeuse avec un insert pour barrette de 8 tubes (barrette de tubes 4Ti).
6. Fournitures standards sans DNase telles que tubes de réaction, pipettes et embouts de pipette.
7. Gants jetables sans poudre.
8. Pipettes calibrées ajustables capables de distribuer des volumes de 10 µL à 200 µL.
9. Batonnets ou pointe de pipette sans nucléase.
10. Seau à glace avec glace ou bloc froid.
11. Unité de chauffage avec bloc chauffant pouvant contenir des tubes de réaction de 1,5 mL et pouvant maintenir la température à 95°C pendant cinq minutes.
12. Equipement de protection individuelle (blouse de laboratoire, gants et lunettes de protection pour la préparation des échantillons).
13. En fonction de l'instrument d'amplification utilisé, un support pour barrettes de 8 tubes (une barrette de tubes 4Ti est utilisée dans CRE STRIP) peut être requis (voir les instructions d'utilisation correspondantes du fabricant).

Tableau 3 : équipement PCR en temps réel et plaques de milieu microbiologique

Fabricant de PCR en temps réel	Modèle
MAST - Qiagen	TS 2.4
Applied Biosystems	ABI 7500 FAST, ABI 7500
Fournisseur de supports microbiologiques	Milieux
E & O Laboratories Ltd	Agar Columbia, Mueller Hinton
Mast Diagnostic	CHROMagar <sup>™</sup> KPC/CHROMagar <sup>™</sup> ESBL, CHROMagar mSuperCARBA

## Préparation de réactif

Préparer l'ADN de contrôle d'inhibition (ICDNA) ainsi :

1. Faire tourner brièvement le tube dans une micro-centrifugeuse pour s'assurer que l'ADN lyophilisé se trouve au fond du tube.
2. Ajouter 200 µL d'eau de qualité moléculaire (WTR) et laissez-le dissoudre pendant 5 minutes.
3. Mélanger doucement en pipetant plusieurs fois.
4. Placer sur de la glace ou un bloc froid jusqu'à utilisation ou aliquoter en petits volumes (10µL requis par échantillon testé) pour un stockage à long terme. Les colonies bactériennes doivent être isolées à partir d'un échantillon clinique conformément aux directives de laboratoire et aux pratiques microbiologiques standards.

## Stockage et durée de vie après la première ouverture

1. Les kits MAST ISOPLEX<sup>®</sup> CRE-ART sont expédiés à température ambiante.
2. Conservez le kit non ouvert à 2°C à 30°C.
3. Protégez les réactifs des rayons directs du soleil.
4. Les réactifs peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption. Après expiration, la qualité du produit n'est pas garantie.
5. Après la remise en suspension de l'ICDNA, la solution peut être conservée entre 2°C et 8°C si elle doit être utilisée le même jour. Pour un stockage à long terme après la reconstitution, stockez-le dans par petits aliquots (volume requis de 10 µL par échantillon) à -20°C pour éviter de multiples cycles de congélation-décongélation.
6. RB3 et WTR sont conservés entre 2°C et 30°C après ouverture jusqu'à la date de péremption.
7. Le jour des essais, les barrettes CRE-STRIP reconstituées doivent être conservées entre 2°C et 8°C pendant la préparation du test.



**Mast Group Ltd.**  
Mast House, Derby Road, Bootle  
Liverpool, Merseyside, L20 1EA  
United Kingdom  
Tel: + 44 (0) 151 472 1444  
Fax: + 44 (0) 151 944 1332  
email: sales@mast-group.com  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostica GmbH**  
Feldstrasse 20  
DE-23858 Reinfeld  
Germany  
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0  
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68  
email: mast@mast-diagnostica.de  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostic**  
12 rue Jean-Jacques Mention  
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1  
France  
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67  
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22  
email: info@mast-diagnostic.fr  
Web: www.mast-group.com



## Avertissements et précautions

1. Les tests doivent être effectués par des professionnels formés au fonctionnement de l'équipement requis et aux tests de diagnostic moléculaire.
2. L'utilisateur doit s'assurer de l'intégrité de l'emballage, de l'étiquetage et du contenu des composants avant la première utilisation (tout problème doit être signalé au fabricant).
3. Ne pas utiliser le kit MAST ISOPLEX® *CRE-ART* après la date de péremption.
4. Les échantillons dont proviennent les colonies isolées testées doivent être traités comme infectieux et/ou bio-dangereux conformément aux directives locales/nationales.
5. Un équipement de protection individuelle approprié doit être porté.
6. Des précautions devraient être prises pour prévenir la contamination microbienne et par des nucléases des réactifs MAST ISOPLEX® *CRE-ART* et échantillons à tester.
7. Utiliser des tubes de réaction, des embouts de pipette et des bâtonnets sans nucléases.
8. Les tubes de réaction doivent être maintenus à tous moments fermés après l'ajout de réactifs et jetés sans les ouvrir après leur utilisation, conformément aux directives locales de santé et de sécurité.
9. Pour éviter toute contamination avec le produit amplifié, ne jamais ouvrir le(s) tube(s) CRE STRIP après l'amplification.
10. Ne pas agiter les tubes de réaction au vortex, car cela pourrait entraîner une contrainte de cisaillement, endommageant l'enzyme et la formation de bulles pouvant gêner la détection de la fluorescence.
11. S'assurer que tous dosages tubes de réaction sont exempts de rayure(s) ou fissure(s) avant utilisation.
12. Des zones de travail dédiées pour séparer a) l'isolement des colonies / la manipulation des échantillons b) la procédure d'analyse et c) l'amplification et la détection en temps réel doivent être disponibles avec l'équipement nécessaire requis alloué à chaque zone.
13. S'assurer que les tubes de réaction du test sont placés sur de la glace (ou un bloc de glace) après une incubation à 95°C pendant 5 minutes pour éviter l'inactivation des composants CRE STRIP lors de l'ajout du contenu du tube de réaction du test.
14. S'assurer que les tubes de réaction contenant l'échantillon, le RB3 et l'ICDNA sont bien fermés avant l'incubation à 95°C
15. Des précautions doivent être prises lors de l'utilisation de l'équipement chauffant, suivre les directives locales et / ou nationales de sécurité.
16. Assurez-vous que tout l'équipement est complètement installé, calibré et entretenu conformément aux directives du fabricant.

## Prélèvement, manipulation et stockage primaires des échantillons

Le principal échantillon à utiliser avec MAST ISOPLEX® *CRE-ART* est une colonie bactérienne isolée cultivée à partir d'un échantillon clinique. Les tests doivent être effectués après une nuit de culture du spécimen clinique pour obtenir une colonie isolée.

## Procédure d'analyse

1. Pipeter 90 µL de tampon RB3 dans un tube à essai de 1,5 mL.
2. À l'aide d'un bâtonnet ou d'une pointe de pipette, touchez la surface d'une colonie isolée (~ 0,2 McFarland; 10<sup>8</sup> UFC/mL) d'une plaque de culture d'une nuit et plongez-la dans un tube à essai de 1,5 mL (étape 1) et mélangez doucement.
3. Ajouter 10 µL d'ICDNA reconstitué au mélange dans le tube de réaction du test. Mélanger en pipetant doucement de haut en bas au moins cinq fois.
4. En vous assurant que le tube de réaction du test est fermé, placez le tube de réaction du test à 95°C pendant 5 min.
5. Après chauffage, retirer immédiatement le tube de réaction du test et le placer sur de la glace ou dans un bloc froid pendant 5 minutes.
6. Après refroidissement, centrifuger brièvement le mélange réactionnel dans une centrifugeuse pendant environ 5 secondes à environ 6 000 tr/min.
7. Ajouter 10 µL du mélange réactionnel dans chaque tube de CRE STRIP.
8. Faites tourner le CRE STRIP dans une centrifugeuse à plateaux pendant 5 secondes à environ 2500 tr/min.
9. Placez le CRE STRIP dans l'instrument choisi pour l'amplification isotherme (si nécessaire, assurez-vous que le support de barrette de 8 tubes approprié est utilisé).
10. Configurez l'instrument pour exécuter le test LAMP :  
Reportez-vous au manuel d'utilisation de l'équipement concerné pour obtenir des conseils sur la configuration et la programmation de l'instrument.
  - a. Définissez les paramètres de test, ceux-ci diffèrent en fonction de l'instrument utilisé.



**Mast Group Ltd.**  
Mast House, Derby Road, Bootle  
Liverpool, Merseyside, L20 1EA  
United Kingdom  
Tel: + 44 (0) 151 472 1444  
Fax: + 44 (0) 151 944 1332  
email: sales@mast-group.com  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostica GmbH**  
Feldstrasse 20  
DE-23858 Reinfeld  
Germany  
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0  
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68  
email: mast@mast-diagnostica.de  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostic**  
12 rue Jean-Jacques Mention  
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1  
France  
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67  
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22  
email: info@mast-diagnostic.fr  
Web: www.mast-group.com



Tableau 4 : Paramètres de dosage

Instrument	Paramètres			
ABI 7500 FAST ABI 7500	Température: 63°C	Temps de dosage: 30 minutes	Temps d'un cycle: 1 minute	Référence de fond: Aucun
TS2.4	Sélectionnez le protocole CreArt_Eng_3			

Remarque pour les instruments non répertoriés, l'utilisateur doit suivre la température et la durée de dosage pour ABI7500 / FAST

- b. Sélectionnez le canal de détection FAM.

## Procédure de contrôle

Les kits MAST ISOPLEX® *CRE-ART* (chaque lot) sont testés par rapport à des spécifications prédéfinies, afin de garantir l'uniformité de la qualité du produit, conformément à la norme EN ISO13485:2016 de Mast Group Limited « Les Dispositifs médicaux - Systèmes de management de la qualité - Exigences à des fins réglementaires » et IVDD 98 / 79 / CE « Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro ».

Le tube 8 des CRE STRIP sert d'indicateur de contrôle qualité pour chaque test CRE STRIP et ce tube doit toujours produire un résultat positif. Cet essai cible l'ICDNA ajouté à l'échantillon avant le traitement thermique. Un résultat positif dans le tube 8 indique que le traitement thermique ne dénature pas l'ADN, que les composants de CRE STRIP fonctionnent comme prévu et que l'ICDNA a été ajouté à l'échantillon avant le traitement thermique. Un résultat négatif dans le tube 8 CRE STRIP indique une dégradation de l'ADN pendant le traitement thermique ou que l'ICDNA n'a pas été ajouté à l'échantillon ou que les réactifs CRE STRIP ne fonctionnent pas correctement. En cas de résultat négatif, assurez-vous que la configuration de l'instrument et la procédure de test sont suivies correctement et que les réactifs n'ont pas atteint la date de péremption avant de répéter le test.

Pour éviter toute contamination lors de la procédure d'examen, un test peut être effectué en l'absence d'ICDNA ou d'un échantillon. Remplacez le volume d'ICDNA ou d'échantillon par le WTR fourni dans le kit MAST ISOPLEX® *CRE-ART*. Tous les tubes devraient donner un résultat négatif. Un résultat positif indique la présence d'ADN non spécifique. Assurez-vous que tous les équipements et toutes les zones de travail sont exempts de contamination avant de répéter le test. Si vous obtenez un résultat similaire, contactez le support technique de Mast Group Limited.

Pour s'assurer que les tubes CRE STRIP présentent des performances conformes, il est possible d'utiliser comme contrôle positif un ADN spécifique approprié correspondant aux cibles pour chaque tube à la place de l'échantillon. Un résultat positif doit être détecté dans chaque tube où un contrôle positif est ajouté. Si un résultat négatif est observé, cela indique une inhibition du test LAMP ou une incapacité à ajouter l'ADN témoin positif. Répétez le test. Contactez le support technique de Mast Group Limited pour plus d'informations sur l'ADN du contrôle positif.

Tableau 5 : Interprétation des contrôles

	CRE STRIP (numéro de tube)								Interprétation du résultat
	1	2	3	4	5	6	7	8	
<b>Type de contrôle</b>									
Pas d'échantillon contrôle (uniquement l'ICDNA ajouté)	-	-	-	-	-	-	-	+	Résultat valide
Pas d'échantillon contrôle (uniquement l'ICDNA ajouté)	+	+	+	+	+	+	+	+	Résultat invalide. Répéter le test pour s'assurer que l'ensemble du matériel n'est pas contaminé par de l'ADN
Contrôle positif ADN + ICDNA	- dans n'importe quel tube (tubes 1 à 7)							+	Résultat invalide. Répéter le test en s'assurant que l'ADN de contrôle est ajouté

+ désigne une amplification positive et Ct < 30 ; - dénote une amplification négative et aucune valeur Ct

## Interprétation des résultats

L'analyse de chaque test est effectuée par le logiciel de l'instrument. En général, un résultat positif est indiqué par une nette différence d'intensité à un moment donné par rapport à un échantillon contrôle. Pour qu'un résultat soit valide, un résultat positif doit être détecté dans le tube 8 (ICDNA). Si le tube CRE STRIP 8 donne un résultat négatif, le test doit être répété en présence d'ICDNA.



Tableau 6 : Interprétation des résultats MAST ISOPLEX® CRE-ART

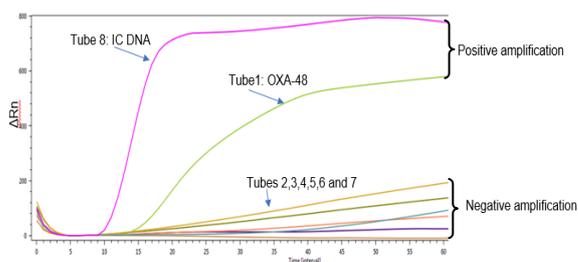
CRE STRIP (numéro de tube)								Interprétation du résultat
1	2	3	4	5	6	7	8	
+	-	-	-	-	-	-	+	Résultat valide : positif pour OXA-48
-	+	-	-	-	-	-	+	Résultat valide : positif pour OXA-23
-	-	+	-	-	-	-	+	Résultat valide : positif pour OXA-24 / OXA40
-	-	-	+	-	-	-	+	Résultat valide : positif pour KPC
-	-	-	-	+	-	-	+	Résultat valide : positif pour VIM
-	-	-	-	-	+	-	+	Résultat valide : positif pour NDM
-	-	-	-	-	-	+	+	Résultat valide : positif pour IMP
-	-	-	-	-	-	-	+	Résultat valide : échantillon négatif (pas d'ADN cible dans l'échantillon)
+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	Résultat invalide. Répéter le test en s'assurant que l'ICDNA est ajouté à l'échantillon à tester avant le traitement thermique de l'échantillon
+ dans plus d'un tube (tubes 1 à 7)							+	Résultat valide : positif pour plus d'un ADN cible

+ désigne une amplification positive et Ct <30 ; - dénote une amplification négative et aucune valeur Ct

Dans le cas d'un résultat douteux, il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon (en double pour confirmer le résultat) ou de confirmer les résultats à l'aide d'une autre méthode.

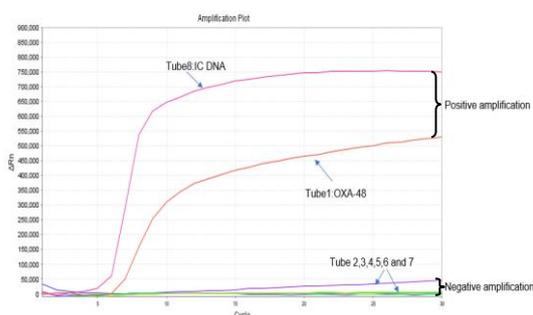
Un résultat positif est indiqué par une augmentation rapide de l'intensité de la fluorescence sur une période relativement courte et dans les 30 minutes de temps de dosage, alors qu'un résultat négatif ne montre aucune augmentation rapide de l'intensité de la fluorescence au cours de la même période (Figure 1 à 2).

Figure 1 : Courbe d'amplification typique d'une *Klebsiella pneumoniae* contenant le gène OXA-48 avec le kit MAST ISOPLEX® CRE-ART testé sur TS2.4



Remarque : Un intervalle de temps est équivalent à 0,5 minute, ainsi le tracé d'amplification est généré sur une durée de test de 30 minutes.

Figure 2 : Courbe d'amplification typique d'une *Klebsiella pneumoniae* contenant le gène OXA-48 avec le kit MAST ISOPLEX® CRE-ART testé sur ABI 7500 FAST.





**Mast Group Ltd.**  
Mast House, Derby Road, Bootle  
Liverpool, Merseyside, L20 1EA  
United Kingdom  
Tel: + 44 (0) 151 472 1444  
Fax: + 44 (0) 151 944 1332  
email: sales@mast-group.com  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostica GmbH**  
Feldstrasse 20  
DE-23858 Reinfeld  
Germany  
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0  
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68  
email: mast@mast-diagnostica.de  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostic**  
12 rue Jean-Jacques Mention  
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1  
France  
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67  
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22  
email: info@mast-diagnostic.fr  
Web: www.mast-group.com



## Caractéristiques de performance

### Traçabilité et valeurs attribuées aux calibrateurs et aux matériaux de contrôle d'exactitude

L'étalonnage, l'entretien, et la maintenance des équipements utilisés avec MAST ISOPLEX® CRE-ART sont effectués conformément aux directives locales et nationales. Les contrôles de qualité de tous les composants sont testés et validés conformément aux directives locales et nationales.

### Sensibilité analytique

La sensibilité analytique de MAST ISOPLEX® CRE-ART a été déterminée en utilisant le plasmide pEX-A218 avec l'ADN du gène cible inséré. Les tests ont été menés sur des dilutions en série au dixième d'ADN plasmidique allant de 10 pg à 0,001 fg. Un total de 8 réplicas ont été effectués pour chaque plasmide dans chaque plage de concentration et les données ont été analysées à l'aide du modèle Probit.

Tableau 7: Sensibilité analytique (basée sur le plasmide contenant une séquence cible spécifique)

Gène cible	Valeur probit Femtogrammes/μL (Intervalle de confiance de 95%)	Valeur probit Nombre de copies d'ADN/μL (Intervalle de confiance de 95%)
OXA-48	0,13 fg/μL (0,07 à 0,75)	44 copies/μL (22,5 à 244,2)
OXA-23	0,28 fg/μL (0,15 à 1,19)	92 copies/μL (49,7 à 386,7)
OXA-24 / OXA-40	2,1 fg/μL (1,05 à 2,02)	683 copies/μL (344 à 6576)
KPC	0,1 fg/μL (0,05 à 0,58)	35 copies/μL (17,4 à 187,4)
VIM	0,1 fg/μL (0,05 à 0,62)	35 copies/μL (16,6 à 195,7)
NDM	0,2 fg/μL (0,08 à 1,36)	53 copies/μL (27,6 à 442,7)
IMP	2,7 fg/μL (1,12 à 27,8)	879 copies/μL (364,8 à 9035,3)

Tableau 8 : Sensibilité analytique (basée sur les souches bactériennes productrices de carbapénémase)

Souche	ACTC / ATCC identifier	Famille de gènes cibles	Valeur probit UFC/μL (Intervalle de confiance de 95%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13422	OXA-48	4 UFC/μL (2,7 à 10,9)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	NCTC 13424	OXA-23	57 UFC/μL (16,71 à 925)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	NCTC 13302	OXA-24 / OXA-40	43 UFC/μL (18,4 à 1043,5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13438	KPC	12 UFC/μL (7,0 à 53,2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13439	VIM	12 UFC/μL (5,5 à 72,6)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC BAA-2472	NDM	15 UFC/μL (9,8 à 140,3)
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 13476	IMP	5 UFC/μL (2,7 à 25,5)

### Spécificité analytique

MAST ISOPLEX® CRE-ART offre une spécificité analytique de 100% lors des tests en utilisant le plasmide cible spécifique utilisé pour les tests de sensibilité analytique et ne présente aucune réaction croisée avec les espèces (reconnues comme ayant une β-Lactamase) énumérées (voir le tableau 9).



Tableau 9 : Essais de réactivité croisée

Espèce	B-lactamase connue	Espèce	B-lactamase connue
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DHA-1, SVH-5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DHA-1, SHV
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DHA-1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DHA-1, CTX-M
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M-15	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Fox-3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SVH-5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Fox
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M	<i>Escherichia coli</i>	Lat-3
<i>Escherichia coli</i>	CTX-M 1	<i>Escherichia coli</i>	TEM 2, CTX-M 9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TEM-29, SHV 14	<i>Salmonella livingstone</i>	acc-1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	dha-1	<i>Escherichia coli</i>	lat-4
<i>Enterobacter cloacae</i>	CTX-M9	<i>Enterobacter cloacae</i>	SHV 12
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CTX-M9, SHV-36	Salmonella species	SHV 12
<i>Escherichia coli</i>	TEM 10	<i>Escherichia coli</i>	TEM 9
<i>Escherichia coli</i>	TEM 4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV 2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV 3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV 2 SHV 5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	K1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV 18
<i>Proteus mirabilis</i>	CMY	<i>Proteus mirabilis</i>	ACC-1
<i>Proteus mirabilis</i>	CMY-3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Imi-R pas de carbapénémase
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCTC 10662	Pas de carbapénémase	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Pas de carbapénémase
<i>Escherichia coli</i>	CTX-M3	<i>Escherichia coli</i>	CTX-M 23
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV 12	<i>Escherichia coli</i>	TEM III
<i>Escherichia coli</i>	CTX-M 33	<i>Escherichia coli</i>	CTX-M 15
<i>Proteus mirabilis</i>	CTX-M1		

## Précision

La précision du kit MAST ISOPLEX® CRE-ART a été déterminée en termes de répétabilité (variation intra lot en utilisant un seul lot et six tests effectués sur une seule journée, voir tableaux 10a et 10b) et de reproductibilité (variation inter lot - trois lots testés, voir tableaux 11a et 11b).

Comme un test LAMP n'est pas quantitatif, la mesure de la précision n'est pas une mesure absolue des performances du test en termes de temps jusqu'à la positivité. Les données générées montrent que, pour la répétabilité, l'écart type varie de 0,35 à 1,94 pour les différentes cibles, avec un %CV compris entre 2,29 et 12,31, et la reproductibilité, de l'écart type allant de 0,21 à 3,02 et le %CV de 2,1 à 17,96.

Une valeur de %CV < 10 est considérée comme très bonne, 10-20 est bonne, 20-30 est acceptable et >30 non acceptable, les valeurs obtenues sont donc bonnes.

Tableau 10a : Répétabilité de MAST ISOPLEX® CRE-ART kit pour des cibles spécifiques

Cible	Valeur moyenne en Ct	Écart-type	Coefficient de variation (% CV)
OXA-48	15,13	1,12	7,67
OXA-23	15,18	1,87	12,31
OXA-24/OXA-40	19,21	1,94	10,07
KPC	15,34	0,35	2,29
VIM	12,10	1,08	8,88
NDM	10,66	0,47	4,43
IMP	14,23	1,27	8,91

Tableau 10b : Répétabilité pour l'ADN de contrôle d'inhibition (ICDNA)

Cible	Valeur moyenne en Ct	Écart-type	Coefficient de variation (%)
ICDNA	11,59	1,35	11,61



**Mast Group Ltd.**  
Mast House, Derby Road, Bootle  
Liverpool, Merseyside, L20 1EA  
United Kingdom  
Tel: + 44 (0) 151 472 1444  
Fax: + 44 (0) 151 944 1332  
email: sales@mast-group.com  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostica GmbH**  
Feldstrasse 20  
DE-23858 Reinfeld  
Germany  
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0  
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68  
email: mast@mast-diagnostica.de  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostic**  
12 rue Jean-Jacques Mention  
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1  
France  
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67  
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22  
email: info@mast-diagnostic.fr  
Web: www.mast-group.com



Tableau 11a : Reproductibilité du kit MAST ISOPLEX® CRE-ART

Cible	Valeur moyenne en Ct	Écart-type	Coefficient de variation (% CV)
OXA-48	13,2	1,17	8,86
OXA-23	12,99	1,05	8,03
OXA-24/OXA-40	17,98	3,02	17,96
KPC	14,52	0,57	3,92
VIM	10,34	1,44	13,93
NDM	9,99	0,21	2,1
IMP	13,03	0,58	4,43

Tableau 11b : Reproductibilité du kit MAST ISOPLEX® CRE-ART pour l'ADN de contrôle d'inhibition (ICDNA)

Cible	Valeur moyenne en Ct	Écart-type	Coefficient de variation (%)
ICDNA	10,63	0,27	2,52

### Caractéristiques de performance diagnostique

Les caractéristiques de performance diagnostique du kit MAST ISOPLEX® CRE-ART (voir le tableau 12a et 12b) ont été déterminés sur 248 isolats cliniques, comprenant des Entérobactéries (n=203), des espèces d'*Acinetobacter* (n=37) et des *Pseudomonas aeruginosa* (n=8). Les isolats ayant des carbapénémases non ciblées par le test et qui n'ont pas été détectées sont classés comme de vrais négatifs. Les travaux ont été effectués par le département de microbiologie du NHS Foundation Trust des hôpitaux de Newcastle-Upon-Tyne.

Tableau 12a : Détection de carbapénémases dans 248 bactéries Gram-négatives avec le kit MAST ISOPLEX® CRE-ART

Type d'isolat / Gène cible	Nombre testé	Nombre détecté par le kit MAST ISOPLEX® CRE-ART
<b>Entérobactéries productrices de carbapénémases</b>		
KPC	16	16
VIM	13	13
IMP	12	12
OXA-48 like	61	61
NDM	52	52
NCM-A	1	0
<b>Pseudomonas aeruginosa productrices de carbapénémases</b>		
VIM	2	2
NDM	2	2
<b>Espèces d'Acinetobacter productrices de carbapénémases</b>		
OXA-23 like	23	23
OXA-24 / OXA-40	2	2
NDM	3	3
OXA-51 like	12	0
OXA-58 like	5	0
OXA-69 like	1	0
<b>Isolats sans carbapénémase</b>	53	2

**Remarque :** le kit MAST ISOPLEX® CRE-ART ne cible pas l'ADN de type NCM-A, OXA-51-like, OXA-58-like ou OXA-69-like, et les résultats des tests effectués sur ces souches sont considérés comme des résultats vrais négatifs..

A partir des données ci-dessus les caractéristiques de performance diagnostique du kit MAST ISOPLEX® CRE-ART est montrés dans le tableau 12b.



**Mast Group Ltd.**  
Mast House, Derby Road, Bootle  
Liverpool, Merseyside, L20 1EA  
United Kingdom  
Tel: + 44 (0) 151 472 1444  
Fax: + 44 (0) 151 944 1332  
email: sales@mast-group.com  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostica GmbH**  
Feldstrasse 20  
DE-23858 Reinfeld  
Germany  
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0  
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68  
email: mast@mast-diagnostica.de  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostic**  
12 rue Jean-Jacques Mention  
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1  
France  
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67  
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22  
email: info@mast-diagnostic.fr  
Web: www.mast-group.com



Tableau 12b : Caractéristiques de performance diagnostique du kit MAST ISOPLEX® CRE-ART

Caractéristique diagnostique	
Sensibilité	100%
Spécificité	97%
Valeur prédictive positive	99%
Valeur prédictive négative	100%

### Intervalle de mesure

MAST ISOPLEX® CRE-ART est un test qualitatif. Toutefois, le kit a été testé dans le but de déterminer la sensibilité de l'analyse en utilisant une gamme d'ADN cible spécifique allant de 100 fg à 1 pg par réaction.

### Intervalle de référence biologique

MAST ISOPLEX® CRE-ART est un test qualitatif et non quantitatif ; les intervalles de référence biologiques ne sont donc pas pertinents.

### Limites de la procédure d'analyse

1. Les résultats obtenus lors de l'utilisation de MAST ISOPLEX® CRE-ART ne doivent pas être utilisés pour le seul diagnostic d'un état clinique, mais doivent être associés à d'autres facteurs cliniques.
2. Le kit MAST ISOPLEX® CRE-ART est validé pour le test d'une colonie bactérienne isolée cultivée à partir d'un échantillon clinique.
3. La quantité de bactéries (voir étape 2 de la procédure d'analyse) inoculées doit être équivalente à environ 0,2 McFarland; 10<sup>8</sup> UFC/mL.
4. Le kit MAST ISOPLEX® CRE-ART a été validé sur les instruments et milieux de culture énumérés dans ce document. L'utilisation d'instruments ou de milieux de culture alternatifs doit être validée par l'utilisateur final avant toute utilisation diagnostique.
5. La présence de DNase ou de protéase peut entraîner des résultats invalides, l'utilisateur doit s'assurer que tout le matériel et les accessoires sont exempts d'ADN.
6. Des niveaux extrêmement élevés d'ADN cible peuvent provoquer un bruit de fond élevé et, en conséquence, un résultat faux négatif du fait que le test d'amplification atteint le seuil maximal de l'instrument. Le respect des instructions d'utilisation, en particulier la collecte d'une petite quantité de colonie, devrait empêcher un tel événement.
7. L'amplification LAMP peut produire un résultat positif avec une quantité très faible d'ADN cible. Toutefois, en dessous des limites de détection données, celles-ci peuvent ne pas être reproductibles. Le respect des instructions d'utilisation, en particulier la cueillette d'une petite quantité de colonie, devrait empêcher un tel événement.
8. Le kit MAST ISOPLEX® CRE-ART est conçu pour amplifier spécifiquement certaines classes et sous-groupes de β-lactamases. Le test amplifiera les classes / sous-groupes identifiés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Familles cibles et membres de familles identifiés par MAST ISOPLEX® CRE-ART

Cible	
Famille	Membres de la famille
<b>OXA-48</b>	48, 162, 163, 181, 199, 204, 232, 244, 245, 247, 252, 370, 405, 416, 438, 439, 484, 505, 514, 515, 517, 519, 538, 546, 547, 566, 567, 731, 788, 793, 833
<b>OXA-23</b>	23, 27, 49, 73, 103, 133, 146, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 225, 239, 366, 398, 422, 423, 435, 440, 482, 483, 565, 657, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818
<b>OXA-24 / OXA-40</b>	24, 25, 26, 40, 72, 139, 160, 207, 437, 653
<b>KPC</b>	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46,
<b>VIM</b>	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68
<b>NDM</b>	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 27, 28
<b>IMP</b>	1, 3, 4, 6, 10, 25, 26, 30, 34, 38, 40, 42, 52, 55, 61, 60



**Mast Group Ltd.**  
Mast House, Derby Road, Bootle  
Liverpool, Merseyside, L20 1EA  
United Kingdom  
Tel: + 44 (0) 151 472 1444  
Fax: + 44 (0) 151 944 1332  
email: sales@mast-group.com  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostica GmbH**  
Feldstrasse 20  
DE-23858 Reinfeld  
Germany  
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0  
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68  
email: mast@mast-diagnostica.de  
Web: www.mast-group.com

**Mast Diagnostic**  
12 rue Jean-Jacques Mention  
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1  
France  
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67  
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22  
email: info@mast-diagnostic.fr  
Web: www.mast-group.com



9. MAST ISOPLEX® *CRE-ART* peut ne pas amplifier les OXA-535, OXA-436, OXA-54, VIM-7, VIM-61, NDM-25 et NDM-26.
10. L'utilisateur doit toujours se référer à la courbe d'amplification (données brutes) générée pendant les tests pour s'assurer que le résultat positif est dû à l'amplification de la cible spécifique et non à l'effet de rampe pouvant être observé sur les instruments, le seuil de bruit de fond ne pouvant pas être modifié manuellement.
11. Chaque barrette CRE STRIP du kit MAST ISOPLEX® *CRE-ART* doit être utilisée pour un seul échantillon. Pour garantir la validité de l'amplification positive, l'utilisateur doit réaliser un contrôle négatif sans échantillon sur une barrette CRE STRIP et un contrôle positif sur une autre barrette CRE STRIP.

## Références

Notomi T et al. Nucleic Acids Research (2000) 28 12, 63