

Utilisation prévue

Le test de **diagnostic *in vitro*** BÜHLMANN Flow CAST® permet l'évaluation **qualitative** de l'activation des basophiles à la suite d'une stimulation avec des allergènes spécifiques. Le dosage Flow CAST® est destiné à aider au diagnostic des réactions allergiques de type immédiat en conjonction avec d'autres résultats cliniques et analyses de laboratoire.

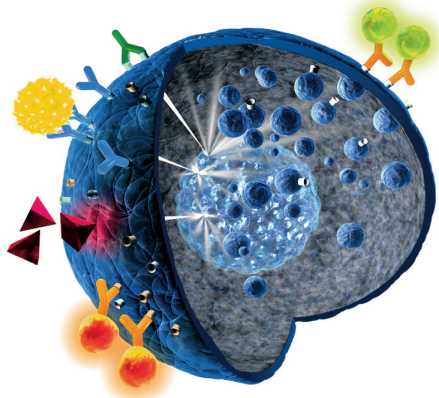
Pour utilisation en laboratoire uniquement.

Principe du Test

Le dosage Flow CAST® est un **test d'activation des basophiles (TAB)** qui reproduit une réaction allergique lors d'un test sanguin. Au cœur du test se trouve la stimulation *ex vivo* des basophiles dans le sang total d'un patient avec un allergène spécifique, suivie d'une détermination par cytométrie en flux de l'activation des basophiles.

Les basophiles sont colorés à l'aide de deux anticorps monoclonaux marqués par fluorescence : l'**anti-CCR3-PE** pour leur sélection et l'**anti-CD63-FITC** pour la détermination du statut d'activation. Les basophiles sont isolés des autres cellules selon CCR3^{pos}/SSC^{low}, et leur statut d'activation est évalué par l'expression de CD63.

La **lecture des résultats du dosage** est indiquée comme étant le rapport des basophiles CD63-positifs sur la totalité des basophiles (**% d'activation de CD63**).



Interprétation des résultats

Résultat	Interprétation
< Seuil	Négatif
≥ Au seuil pour une ou pour les deux dilutions de l'allergène	Positif

Seuil

- **Seuil technique de 5 %**, tel qu'établi par l'étude de la gamme de référence.
- Seuil spécifique à l'allergène avec une spécificité améliorée (Livrets Allergènes CAST® - Booklets)

Performances cliniques

Groupe d'allergènes	Nombre d'études	Sensibilité médiane (intervalle)	Sujets allergiques (total)	Spécificité médiane (intervalle)	Sujets contrôles (total)
Aliments Substances inhalées	5	92% (81-100%)	311	93% (80-100%)	240
Venins d'insectes	2	87% (73-89%)	79	96% (95-97%)	39
Médicaments	7	55% (0-68%)	227	91% (79-100%)	167

11 études évaluées par des pairs ont confirmé l'efficacité du dosage pour distinguer les personnes souffrant de troubles allergiques des sujets non allergiques. Les réactions allergiques ont été vérifiées par les antécédents cliniques du patient, des tests de provocation orale alimentaire, des analyses de laboratoire (essai cutané de type prick - SPT, sIgE) ou une combinaison de ces méthodes.

Caractéristiques de performances

Basophiles obtenus

> 500 basophiles/tube

Précision intra-laboratoire :

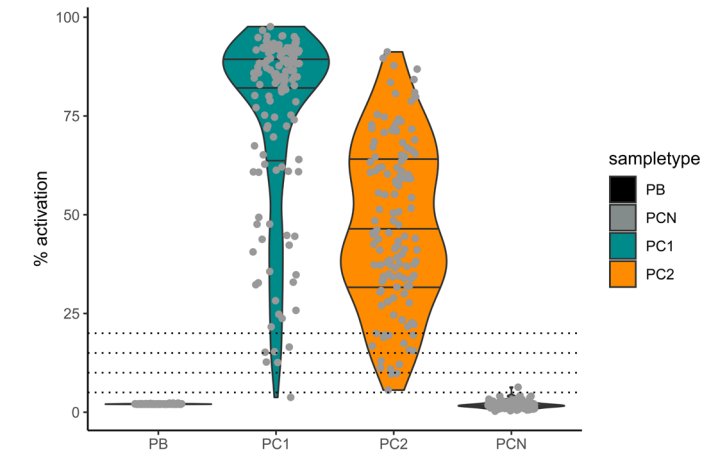
≤ 25% CV pour le stimulus

Établi selon la ligne directrice EP05-A3 du CLSI et la norme ISO 15197:2013.

Reproductibilité :

≤ 25% CV pour le stimulus

Établi selon la ligne directrice EP05-A3 du CLSI et la norme ISO 15197:2013.



Taux de non-répondeurs IgE inférieur à 5%

Dans une étude portant sur 130 donneurs sains, une seule personne a présenté une faible réponse à l'activation du récepteur FcεRI, ce qui a entraîné un taux de non-réponse de 0,77%. La plupart des donneurs (81,5%) ont montré une forte réponse avec un taux d'activation supérieur à 50%.

Nombre d'échantillons / par kit

Nombre d'allergènes	Patients
1 / 1 conc.	25
2 / 1 conc.	20
3 / 1 conc.	16

Pré-analytique

- Echantillon requis :** Sang total EDTA
- Stockage des échantillons :** Stocker à 2-8°C (ne pas congeler)
Traiter les échantillons dans les 48h
Allergènes médicamenteux : traiter dans les 24h
- Prélèvement :** Les tubes de ponction veineuse K-EDTA doivent être remplis au moins à moitié

Aucune interférence avec l'antihistaminique le plus utilisé n'a été détectée jusqu'à une concentration spécifiée. Pour plus de détail, se référer à la notice d'utilisation.

Stockage des échantillons traités

Les cellules traitées à l'aide du protocole standard sont fixées. Les cellules fixées peuvent être conservées à 2-8°C pendant 5 jours pour une acquisition ultérieure.

Équipement

- Cytomètre en flux équipé d'une source laser 488 nm (bleu) avec filtres d'émission pour canal PE et FITC
- Bain-marie ou incubateur (37°C)
- Centrifugeuse

Allergènes CAST®

*A commander séparément, se référer au livret allergènes (booklet)

Préparation :

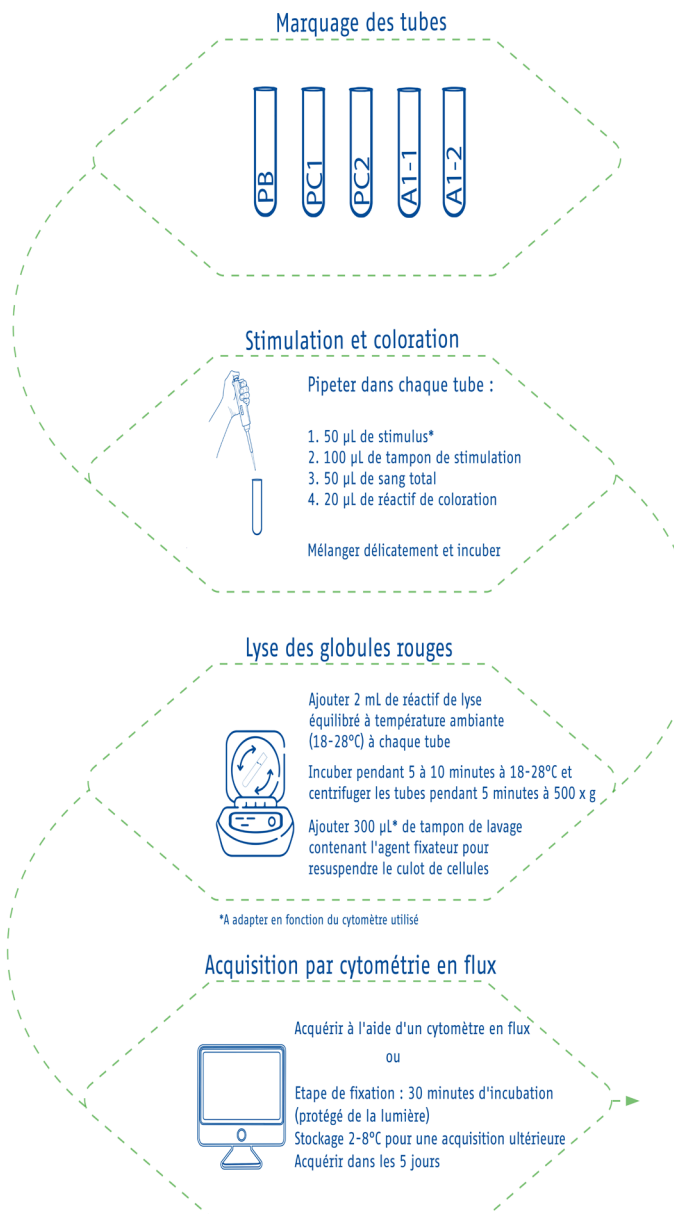
- Remettre en suspension les allergènes avec 250 µL de tampon de stimulation
- Jusqu'à 4 stimulations pour chaque flacon d'allergène
- Utiliser des allergènes fraîchement reconstitués pour la stimulation

Préparation des échantillons

Pour chaque patient, préparer des tubes uniques pour les contrôles et les allergènes souhaités.

- PPB = bruit de fond du patient
PC1 = contrôle de stimulation Ac anti-FcεRI
PC2 = contrôle de stimulation fMLP
A1-1 pour l'allergène 1 avec la dilution 1
A1-2 pour l'allergène 1 avec la dilution 2 etc.

Procédure (~ 60 minutes)



Acquisition des données et interprétation

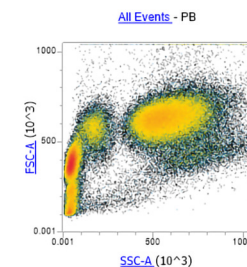


Figure 1 : Trois populations distinctes (lymphocytes, monocytes et granulocytes) sur un histogramme FSC/SSC

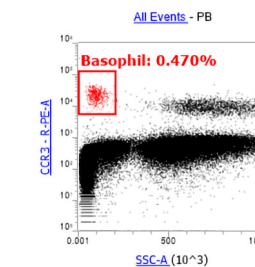


Figure 2 : Sélection des cellules basophiles CCR3^{pos}/SSC^{low}

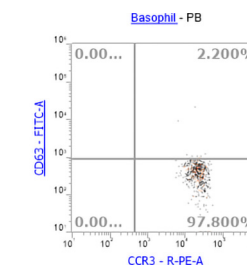


Figure 3 : Bruit de fond du patient (PB) avec STB uniquement

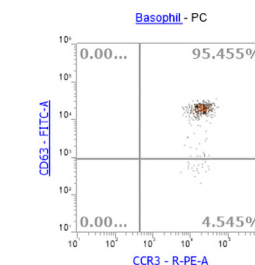


Figure 4 : Contrôle de stimulation (STCON)

Fenêtre	Numération (n=)	%
Total	125'864	100.0
Basophiles	591	0.47
Q2 (CD63 ^{pos})	13	2.2
Q4 (CD63 ^{neg})	578	97.8

Fenêtre	Numération (n=)	%
Total	130'926	100.0
Basophiles	506	0.386
Q2 (CD63 ^{pos})	483	95.5
Q4 (CD63 ^{neg})	23	4.5

Ce document est à titre informatif uniquement, avant d'effectuer le test se référer/lire attentivement les modes d'emploi respectifs disponibles (<https://www.buhlmannlabs.ch/support/téléchargements/eifus/>).

Code de commande :
FK-CCR 100 tests



BÜHLMANN Laboratories AG
Switzerland
info@buhlmannlabs.ch
www.buhlmannlabs.ch
Phone +41 61 487 12 12

BÜHLMANN France SAS
France
info@buhlmannlabs.fr
www.buhlmannlabs.fr
Phone +33 3 89 66 91 14