



CAST[®]-Allergens

Revision date: 2007-11-06

ENGLISH

INTENDED USE

The CAST®-Allergens from BÜHLMANN are intended for *in vitro* leukocyte stimulation in the CAST®-Assays, namely CAST®-2000 ELISA (EK-CAST) and Flow-CAST® (FK-BAT) Kit. CAST®-Allergens that consist of proteins are allergen extracts presented in a stable, concentrated liquid form without covalent modifications. CAST®-Allergens such as chemicals and drugs are provided in lyophilized form. All CAST®-Allergens are preweighted and filled in a ready-to-dilute or ready-to-dissolve form, respectively. CAST®-Allergens are available as separate reagents and are not included in the CAST®-Assay kits.

INSTRUCTION FOR USE

Dissolve (or dilute) the allergen prior to use in the CAST®-Assays as follows:

- Add 250 µl of CAST® Stimulation Buffer to the vial and vortex briefly.
- Use allergen solution according to the CAST®-Assay protocols (see corresponding instructions for use).

Additionally to the highest concentration after the allergen dilution described above we recommend to stimulate the cells also with diluted allergen solution (further dilution of e.g. 1:5 with Stimulation Buffer). Some patients individually show a positive stimulation either at high or at low allergen concentrations only, whereas others are reacting positive over a broad range of allergen concentrations.

STORAGE AND SHELF LIFE

Store the unopened CAST®-Allergens at 2-8°C until the expiration date marked on the vial.

IMPORTANT: Use a fresh vial of allergen each time a new cell stimulation is performed!

POINT OF TIME FOR PATIENT EVALUATION

The optimal time for diagnostic evaluation of a patient with the CAST®-Assays is between 3 and 12 weeks after an adverse reaction to suspected allergens, although specific basophil reactivity in many cases persists much longer. The CAST®-Assays can also detect a potentially adverse reaction to a specific allergen even without history of previous clinical reaction to that allergen. In some circumstances, the CAST®-Assays may therefore be used as a screening assay or a prognostic test for future adverse reactions within a series of related drugs (e.g. Betalactam antibiotics, non steroidal anti-inflammatory drugs).

The blood sample for the CAST®-Assays must be collected before skin testing or *in vivo* provocation of the patient with a culprit or suspected allergen. The exposition to the allergen may cause a general activation of the patients leukocytes.

LIMITATIONS

A NEGATIVE CAST®-ASSAY RESULT FOR A SPECIFIC ALLERGEN CAN NOT EXCLUDE THE POTENTIAL OCCURRENCE OF A (EVEN SEVERE) CLINICAL REACTION IN A PATIENT. Patients with a history of adverse reactions to protein or drug allergen with a negative CAST®-Assay result should therefore be followed up with an additional method, such as an *in vivo* provocation or skin prick test (where appropriate), before any drug will be administered or the patient will be exposed to the allergen.

PROTEIN ALLERGENS AND MIXES

This instruction applies for the following group of inhalant and food allergens and allergen mixtures thereof:

- GRASSES, WEEDS AND TREES
- MOLDS
- INSECT VENOMS, INSECTS, MITES AND HIGHER ANIMALS
- ALBUMINS
- FOOD

ALLERGEN CONCENTRATION AND CUT-OFF

In general, the protein allergens contain 25 ng concentrated protein extract per vial. The dilution of the allergen with 250 µl Stimulation Buffer results in a concentration of 100 ng/ml in the vial.

CAST®-2000 ELISA

For INHALATION and FOOD ALLERGENS as well as for LATEX and α-AMYLASE, we propose that individuals with a net stimulation yield **HIGHER THAN 200 pg/ml sLT** should be regarded as positive for the allergen tested.

In a recent study (1) the clinical cut-off for **BEE** (BAG2-I1) and **WASP VENOM** (BAG2-I3) was set to **270 pg/ml** with a grey zone from 200 to 270 pg/ml.

Flow-CAST®

Samples stimulated with INHALANT or FOOD ALLERGENS showing a basophil activation rate (% CD63 positive) ≥ 15 % can be regarded as positive. Samples stimulated ≥ 10 % with INSECT VENOM or LATEX can be regarded as positive

For further information refer to the allergen data sheets available on www.buhmannlabs.ch/2-1-5-Allergens.php.

DRUG ALLERGENS, CHEMICAL ALLERGENS AND FOOD ADDITIVES

This instruction applies for the following group of allergens and allergen mixtures thereof:

- ANTIBIOTICS
- ANALGESICS
- ANESTHETICS / MYORELAXANTS
- FOOD ADDITIVES
- ENVIRONMENTAL / OCCUPATIONAL.

CONCENTRATION AND CUT-OFF

All drug, chemical and food additive allergens are characterized for their inhibition and unspecific stimulatory properties. Based on those evaluations, the highest possible allergen concentration for the cell stimulation was established. For the allergen concentrations refer to the individual allergen data sheets available on www.buhmannlabs.ch.

In general, drugs, chemicals and food additives usually cause lower sLT release and basophil activation, respectively. Therefore lower cut-off values should be applied for these allergens. The proposed cut-off values for each single allergen can be found on the individual allergen data sheets available on www.buhmannlabs.ch.

CAST®-2000 ELISA

Due to the small increase of sLT release with this kind of allergens Bühlmann established for each single allergen an INDIVIDUAL TECHNICAL CUT-OFF. The values represent the mean + 3SD of net stimulation of up to 20 stimulated samples from normal blood donors. Due to inter-laboratory variation and the precision of the assay the cut-off values recommended are not set below 40 pg/ml.

Notes:

- Bühlmann recommends using a grey zone including ±20% of the individual technical cut-offs.
- To use the individual technical cut-off the assay quality control criteria described in the instruction for use of the EK-CAST must be fulfilled.

- The cut-off values should be used as guidelines only. A clinical relevant cut-off should be established by each laboratory and by further studies, respectively.

Flow-CAST®

Due to the small increase of basophil activation with these types of allergens, Bühlmann propose for the Flow-CAST® the use of a stimulation index (SI) as an additional discrimination criterion. The SI is defined as the gross stimulation divided by the negative control value.

RECOMMENDATIONS FOR THE USE OF THE CAST®-ASSAYS IN DRUG ALLERGY DIAGNOSIS

Drug allergy diagnosis is a complex domain with heterogeneous symptoms and pathophysiology (2-4). Therefore, and AS A GUIDELINE only, the following recommendations should be regarded when using the CAST®-Assays to test patients for allergy to drugs and/or chemicals.

CLINICAL CONDITIONS SUITABLE FOR EVALUATION WITH CAST®-ASSAYS

Immediate adverse reactions to drugs and chemicals may be caused *in vivo* by both, IgE and non-IgE mediated (so-called pseudo-allergies) stimulation of effector cells (e.g. basophils, mast cells and eosinophils). The CAST®-Assays could be regarded as a model of the above events, in which patients leukocytes are stimulated *in vitro*. However, as CAST®-Assays use pure allergens and a defined buffer system without plasma components (e.g. coagulation factors or complement), the method can only be considered as a simplified model of the *in vivo* situation.

The CAST®-Assays are optimized for the detection of immediate type allergic (type I) and pseudo-allergic reactions only. The CAST®-Assays are not likely to detect delayed types of allergic reactions (e.g. type IV reactions). Therefore, it should only be used for the diagnosis of immediate type reactions, particularly clinical symptoms as follows:

- Anaphylaxis and anaphylactoid reactions
- Rhinoconjunctivitis
- Asthma bronchiale
- Urticaria/Angiodema
- Gastrointestinal reactions.

CLINICAL CONDITIONS NOT SUITABLE FOR EVALUATION WITH CAST®-ASSAYS

The CAST®-Assays are less likely to yield positive results in cases of T-cell mediated reactions. Based on the known pathogenetic mechanisms, we do not recommend evaluating routinely the following group of patients with the CAST®-Assays showing:

- Maculopapular exanthema and Pustular exanthema
- Vasculitis
- Allergic contact dermatitis
- Bullous exanthemas, such as Stevens-Johnson syndrome and Lyell's disease.

CUSTOMER SPECIFIC ALLERGENS

The same rules as for the establishment of the Bühlmann CAST®-Allergens should be applied. Allergens from other sources can be used by considering to following limitations:

- No matrix-bound allergens (solid or liquid phase)
- No allergen preparations containing sulfidoleukotrienes
- No allergen preparations containing cytotoxic compounds (stabilizers, preservatives) such as phenol, glycerol, sodium azide or merthiolate (thimerosal).

For the procedure to establish customer specific allergens for the CAST®-Assays ask your local distributor or contact Bühlmann Laboratories AG. Specific information is available upon request.

DEUTSCH

ANWENDUNGSZWECK

Die BÜHLMANN CAST®-Allergene werden gebraucht für die *in vitro* Leukozyten Stimulation in den CAST®-Assays, CAST®-2000 ELISA (EK-CAST) und Flow-CAST® (FK-BAT) Protein-basierte CAST®-Allergene sind Allergen-extrakte welche in einer stabilen konzentrierten, flüssigen Form ohne kovalente Modifikationen bestehen. Chemische und Medikamenten CAST®-Allergene werden in lyophilisierter Form geliefert. Alle CAST®-Allergene sind abgefüllt und liegen entweder als „ready to dilute“ oder als „ready to dissolve“ vor.

CAST®-Allergene sind als einzelne Reagenzien erhältlich und sind kein Bestandteil der CAST®-Assay Kits.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Vor dem Gebrauch der Allergene in den CAST®-Assays, werden diese wie folgt entweder gelöst oder verdünnt:

- 250 µl CAST® Stimulations Puffer zum Röhrchen zugeben und vorsichtig vortexen.
- Die Allergenlösung entsprechend der CAST®-Assay Gebrauchsanweisung (siehe jeweilige Gebrauchsanweisung) einsetzen.

Zusätzlich zur höchsten Konzentration nach der Allergenverdünnung welche oben beschrieben wurde, wird empfohlen die Zellen mit verdünnten Allergenlösungen zu stimulieren (z.B. mit Stimulations Puffer 1:5 verdünnen).

Einzelne Patienten zeigen nur eine positive Stimulation entweder bei hohen oder tiefen Allergenkonzentrationen, während andere über einen breiten Konzentrationsbereich positiv reagieren.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Ungeöffnete CAST®-Allergene können bei 2-8°C bis zum Verfallsdatum gelagert werden.

WICHTIG: Für jeden neuen Stimulationsansatz muß ein neues Allergenröhrchen eingesetzt werden!

ZEITPUNKT DER PATIENTENMESSUNG

Der optimale Zeitpunkt zur Durchführung eines CAST®-Assays ist zwischen 3 und 12 Wochen nach einer allergischen Reaktion auf ein vermutetes Allergen. Dies, obwohl die spezifische Reaktivität der basophilen Zellen meistens über einen längeren Zeitraum erhalten bleibt.

Die CAST®-Assays können auch mögliche „allergische“ Reaktionen nachweisen, ohne daß eine Patientengeschichte gegenüber diesem Allergen bekannt wäre. Unter gewissen Umständen, können die CAST®-Assays als screening oder als prognostische Tests für zukünftige „allergische“ Reaktionen innerhalb von verwandten Medikamenten (z.B. betalaktam-Antibiotika und Nicht-stereoidale Entzündungshemmer) benutzt werden.

Die Blutproben für die CAST®-Assays müssen abgenommen werden bevor ein Hauttest oder eine *in vivo* Provokation mit dem verdächtigen Allergen durchgeführt wurde. Die *in vivo* Exposition gegenüber einem Allergen kann eine generelle Aktivierung der Patientenleukozyten zur Folge haben.

EINSCHRÄNKUNGEN

EIN NEGATIVES CAST®-ASSAY RESULTAT FÜR EIN SPEZIFISCHES ALLERGEN SCHLIESST DIE MÖGLICHKEIT EINER (AUCH SCHWEREN) KLINISCHEN REAKTION BEIM PATIENTEN NICHT AUS. Patienten welche früher „allergische“ Reaktionen gegenüber Protein oder Medikamenten Allergenen gezeigt haben und welche ein negatives CAST®-Assay Resultat haben, sollten deswegen wenn

möglich mit weiteren Methoden, wie *in vivo* Provokation oder Hauttestung getestet werden, bevor ein Medikament verabreicht wird oder der Patient dem Allergen ausgesetzt wird.

PROTEIN ALLERGENE UND GEMISCHE

Die nachfolgenden Instruktionen gelten für die unten aufgeführten Inhalations und Lebensmittel Allergene, sowie deren Allergengemische:

- GRÄSER, STRÄUCHER UND BÄUME
- SCHIMMELPILZE UND HEFEN
- INSEKTEN GIFTE, INSEKTEN, MILBEN UND HÖHERE WIRBELTIERE
- ALBUMINE
- LEBENSMITTEL

ALLERGEN KONZENTRATIONEN UND GRENZWERTE

Die Proteinallergene enthalten 25 ng konzentrierten Proteinextrakt pro Röhrchen. Die Verdünnung mit 250 µl Stimulations-Puffer führt zu einer Allergenkonzentration im Röhrchen von 100 ng/ml.

CAST®-2000 ELISA

Für die INHALATIONS und LEBENSMITTEL ALLERGENE wie auch für, LATEX und A-AMYLASE, wird ein Grenzwert von 200 pg/ml sLT vorgeschlagen. Patienten deren Netto Stimulation **HÖHER ALS 200 pg/ml sLT** liegt können als positive betrachtet werden.

In einer aktuellen Studie (1) wurde der Cut-off für **BIENEN** (BAG2-11) und **WESPEN GIFT** (BAG2-13) auf einen Wert von **270 pg/ml** mit einem Graubereich von 200-270 pg/ml festgelegt.

Flow-CAST®

Proben, welche mit INHALATIONS oder LEBENSMITTEL ALLERGENEN stimuliert wurden und ein Aktivierungsverhältnis der Basophilen (% CD63 positiv) $\geq 15\%$ aufweisen, können als positiv betrachtet werden. Proben welche mit INSEKTENGIFT oder LATEX stimuliert wurden und $\geq 10\%$ sind, können als positiv betrachtet werden.

Für weitere Informationen siehe Allergendatenblätter, welche über www.buhmannlabs.ch/2-1-5-Allergens.php erhältlich sind.

MEDIKAMENTEN ALLERGENE, CHEMISCHE ALLERGENE UND LEBENSMITTELZUSATZSTOFFE

Die nachfolgenden Instruktionen gelten für die unten aufgeführten MEDIKAMENTEN ALLERGENE, CHEMISCHEN ALLERGENE und LEBENSMITTELZUSATZSTOFFE, sowie deren Allergengemische:

- ANTIBIOTIKA
- ANALGETIKA / MYORELAXANZIEN
- LEBENSMITTELZUSATZSTOFFE
- UMWELT / BERUFS ALLERGENE

KONZENTRATIONEN UND GRENZWERTE

Die Konzentrationen dieser Allergengruppen wurden charakterisiert bezüglich deren Stimulationshemmung und unspezifischen Stimulation. Aufgrund dieser Evaluation wurden die höchstmöglichen Konzentrationen für die Zellstimulation verwendet. (vergl. „Kundeneingene Allergene“ Schritte 1-4; erhältlich auf Anfrage). Die Konzentrationen der einzelnen Allergene finden Sie auf den individuellen Allergendatenblätter auf www.buhmannlabs.ch.

Im allgemeinen verursachen diese Allergengruppen eine schwächere sLT Ausschüttung und Basophilenaktivierung.

Aus diesem Grunde sollten tiefere Grenzwerte angewendet werden. Die vorgeschlagenen Grenzwerte finden Sie in den Allergendatenblätter welche über www.buhlmannlabs.ch erhältlich sind.

CAST®-2000 ELISA

Aufgrund schwächerer sLT Ausschüttung bei diesen Allergengruppen, etablierte Bülmann für jedes Einzelallergen einen individuellen technischen Grenzwert. Die Werte entsprechen dem Mittelwert + 3 Standardabweichungen der Nettostimulation von bis zu 20 stimulierten Proben von normalen Blutspendern. Aufgrund normaler Schwankungen zwischen den Laboratorien und der Präzision des Tests, wurden die empfohlenen Grenzwerte nicht unter 40 pg/ml sLT gesetzt.

HINWEISE:

- Bülmann empfiehlt die Verwendung einer Grauzone, welche $\pm 20\%$ der individuellen technischen Cut-off Werte beträgt.
- Um die individuellen technischen Cut-off Werte anzuwenden, müssen die in der Arbeitsanleitung beschriebenen Qualitätskontroll Kriterien erfüllt werden.
- Diese Grenzwerte dürfen nur als Empfehlungen betrachtet werden. Klinisch relevante Grenzwerte sollten durch jedes Labor oder durch weitere Studien ermittelt werden.

Flow-CAST®

Aufgrund der geringen Basophilen Aktivierung dieser Allergene, wird die Anwendung eines Stimulationsindex (SI) als zusätzliches Kriterium durch Bülmann vorgeschlagen. Der SI ist definiert als die Brutto Stimulation geteilt durch den Wert der Negativ Kontrolle.

EMPFEHLUNGEN FÜR DEN GEBRAUCH DER CAST®-ASSAYS IN DER MEDIKAMENTEN ALLERGIE DIAGNOSTIK

Die Medikamenten Allergie Diagnostik ist eine komplexe Angelegenheit mit heterogenen Symptomen und Pathophysiologie (2-4). Deshalb sollten die folgenden Empfehlungen bei der Anwendung der CAST®-Assays zur Testung von Medikamenten Allergien berücksichtigt werden. Diese Empfehlungen dürfen aber bloß als generelle Richtlinien verstanden werden.

KLINISCHE BILDER WELCHE DIE ANWENDUNG DER CAST®-ASSAYS RECHTFERTIGEN

Direkte "allergische" Reaktionen *in vivo* nach der Exposition gegenüber Medikamenten und Chemikalien können entweder durch IgE oder nicht-IgE (sogenannte Pseudoallergien) vermittelte Stimulation von Effektorzellen (z.B. Basophile, Mastzellen und Eosinophile) sein. Die CAST®-Assays können als Modell betrachtet werden für die oben erwähnten Ereignisse, bei welchen die Patienten Leukozyten *in vitro* stimuliert werden. Da in den CAST®-Assays reine Allergene und ein definiertes Puffer System ohne Plasma Komponenten (z.B. Koagulationsfaktoren oder Komplemente) verwendet werden, kann die Methode nur als ein vereinfachtes Modell der *in vivo* Situation betrachtet werden.

Die CAST®-Assays wurden optimiert für die Detektion von allergischen (Typ I) und pseudoallergischen direkt Typ I Reaktionen. Die CAST®-Assays sind nicht ausgerichtet für das Aufspüren von allergischen spät Reaktionen (z.B. Typ IV Reaktionen). Aus diesem Grunde sollten die Tests nur bei direkt Typ I Reaktionen angewendet werden, insbesondere bei den folgenden klinischen Symptomen:

- Anaphylaxie oder Anaphylaktoide Reaktionen
- Rhinokonjunktivitis

- Asthma bronchiale
- Urticaria/Angioödeme
- Gastrointestinale Reaktionen

KLINISCHE BILDER WELCHE DIE ANWENDUNG DER CAST®-ASSAYS NICHT RECHTFERTIGEN

Die CAST®-Assays sind nicht gedacht für die Anwendung bei T-Zell vermittelten Reaktionen. Aufgrund der bekannten pathogenetischen Mechanismen, wird nicht empfohlen die folgenden Patientengruppen routinemäßig mit den CAST®-Assays zu testen:

- Makulopapulöses und pustulöses Exanthem
- Vaskulitis
- Allergische Kontaktdermatitis
- Bullöse Exantheme, wie Stevens-Johnsons Syndrom und Lyell's Krankheit.

KUNDENEIGENE ALLERGENE

Allergene von anderen Herstellern oder eigene Allergenextrakte können verwendet werden. Es sollten die gleichen Regeln zur Etablierung von kundeneigenen Allergenen angewendet werden, welche auch für die Bülmann CAST®-Allergene gelten:

- keine Matrix gebundenen Allergene (fest oder flüssig)
- keine Allergenpräparationen welche Sulfidoleukotriene enthalten
- keine Allergenpräparationen welche zytotoxische Inhaltsstoffe (Stabilisatoren, Konservierungsstoffe) enthalten, wie z.B. Phenol, Glycerol, Natriumazid oder Merthiolat (Thimerosal).

Eine Anleitung zur Herstellung eigener Allergenextrakte, für die Anwendung in den CAST®-Assay, ist auf einem speziellen Informationsblatt auf Anfrage erhältlich. Fragen Sie Ihren lokalen Vertreter oder kontaktieren Sie direkt Bülmann Laboratories AG.

FRANCAIS

DOMAINE D'UTILISATION

Les allergènes CAST® des Laboratoires BÜHLMANN sont destinés à la stimulation *in vitro* des leucocytes au cours des tests CAST®, à savoir CAST®-2000 ELISA (EK-CAST) et Flow-CAST® (FK-BAT). Les allergènes protéiques CAST® sont des extraits d'allergènes conditionnés sous forme liquide stable et concentrée. Ils n'ont subi aucune modification covalente. Les allergènes CAST® tels que les substances chimiques ou médicamenteuses sont conditionnés sous forme lyophilisée. Tous les allergènes CAST® sont pré-pesés et livrés prêts à diluer ou à reconstituer. Ils ne font pas partie des coffrets CAST® et peuvent être commandés séparément.

MODE D'EMPLOI

Reconstituer ou diluer l'allergène avant son utilisation pour l'un des tests CAST® de la manière suivante:

- Ajouter 250 µl de tampon de stimulation CAST® au flacon et vortexer brièvement.
- Utiliser la solution d'allergène conformément aux protocoles des différents tests CAST® (cf. modes opératoires correspondants).

Nous recommandons également de faire une dilution supplémentaire à celle décrite ci-dessus, qui sera la concentration la plus élevée de l'allergène testé, afin de procéder à une stimulation cellulaire avec une dilution de l'allergène (par ex. une dilution 1:5 avec le tampon de stimulation). Certains patients ne réagissent qu'à certaines dilutions basses ou élevées, alors que d'autres présenteront une réaction quelque soit la concentration de l'allergène utilisée.

STOCKAGE ET PEREMPTION

Il convient de stocker les allergènes CAST® non-reconstitués, non-dilués à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'étiquette de chaque flacon.

IMPORTANT: un nouveau flacon d'allergène doit être utilisé pour chaque nouvelle stimulation.

CHOIX DU MOMENT DE L'ANALYSE

Le moment opportun pour effectuer les tests CAST® se situe entre 3 et 12 semaines après un épisode allergique avec l'allergène mis en cause. Cependant la réactivité spécifique des basophiles peut persister bien au-delà de cet intervalle de temps. Les tests CAST® permettent également de mettre à jour des réactions allergiques potentielles due à un allergène spécifique sans que le patient ait préalablement présenté des signes cliniques. Dans certains cas, les tests CAST® peuvent ainsi être utilisés pour le dépistage ou en tant que test pronostique de réactions allergiques futures à certains médicaments (Bêtalactamines, anti-inflammatoires non-stéroïdiens).

Les échantillons sanguins destinés aux tests CAST® doivent être prélevés avant de procéder chez le patient aux tests cutanés ou aux provocations *in vivo* avec l'allergène en cause ou suspecté être en cause. L'exposition à un allergène est susceptible de provoquer une activation générale des leucocytes du patient.

LIMITATIONS

UN RESULTAT NEGATIF AUX TESTS CAST® POUR UN ALLERGENE SPECIFIQUE NE PERMET PAS D'EXCLURE UNE MANIFESTATION ALLERGIQUE (MEME SEVERE) POUR LE PATIENT TESTE.

Les patients ayant présenté des réactions allergiques à certains médicaments ou à certaines protéines et donnant

des résultats négatifs aux tests CAST® devraient subir des tests complémentaires tels que les tests de provocation *in vivo* ou cutanés (selon le cas), avant de décider d'administrer ou d'exposer à nouveau le patient à l'allergène en question.

ALLERGENES PROTEIQUES ET MELANGES

Cette procédure s'applique aux groupes d'allergènes respiratoires ou alimentaires ou encore aux mélanges suivants:

- GRAMINEES, HERBES ET ARBRES
- MOISSISSURES
- VENINS D'INSECTES, INSECTES, ACARIENS ET AUTRES ANIMAUX
- ALBUMINES
- ALIMENTS

CONCENTRATIONS ET VALEURS SEUIL

Les allergènes protéiques contiennent 25 ng d'extrait protéique concentré par flacon, en général. La dilution de l'allergène avec 250 µl de tampon de stimulation permet d'obtenir une concentration de 100 ng/ml dans le flacon.

CAST®-2000 ELISA

Pour les allergènes respiratoires et alimentaires ainsi que pour le latex et l'α-AMYLASE, nous préconisons que les individus présentant des résultats de stimulation nets **SUPERIEURS A 200 pg/ml sLT** soient considérés comme étant positifs à l'allergène testé.

Lors d'une récente étude (1), la valeur seuil clinique pour le **VENIN D'ABEILLE** (BAG2-11) et de **GUEPE** (BAG-13) a été définie à **270 pg/ml**, avec une zone d'incertitude allant de 200 à 270 pg/ml.

Flow-CAST®

Les échantillons stimulés par des allergènes respiratoires ou alimentaires présentant un taux d'activation des basophiles (% de CD63 positifs) ≥ 15 % peuvent être considérés comme étant positifs. Lorsque le latex ou les venins d'insectes sont testés, des taux de stimulation ≥ 10 % peuvent être considérés comme étant positifs.

Merci de consulter les fiche technique sur le site de BÜHLMANN (www.buhmannlabs.ch/2-1-5-Allergens.php).

MEDICAMENTS, PRODUITS CHIMIQUES ET ADDITIFS ALIMENTAIRES

Cette procédure s'applique aux groupes d'allergènes ou encore aux mélanges suivants:

- ANTIBIOTIQUES
- ANALGESIQUES
- ANESTHESIQUES / MYORELAXANTS
- ADDITIFS ALIMENTAIRES
- ALLERGENES ENVIRONNEMENTAUX / D'OCCUPATION

CONCENTRATIONS ET VALEURS SEUIL

Les médicaments, les allergènes chimiques et les additifs alimentaires se caractérisent par leurs propriétés inhibitrices et de stimulation non-spécifique.

De ce fait, une concentration maximale de l'allergène a été déterminée pour la stimulation cellulaire (cf. "Allergènes particuliers", étapes 1 à 4, disponible sur demande). Pour ces concentrations d'allergène, merci de vous reporter à la site de BÜHLMANN (www.buhmannlabs.ch).

En règle générale, les médicaments, les allergènes chimiques et les additifs alimentaires provoquent une libération de sLT ainsi qu'une activation des basophiles

moindres. Ainsi des valeurs seuil inférieures doivent être utilisées. Les valeurs seuil proposées pour chaque allergène se trouvent dans les fiche technique à la site de BÜHLMANN (www.buhlmannlabs.ch).

CAST®-2000 ELISA

En raison de la faible augmentation de libération de sLT avec ce type d'allergène, il a été décidé d'établir des valeurs seuil individuelles pour chaque allergène. Ces valeurs sont calculées à partir de la déviation de 3SD de la stimulation nette moyenne de 20 échantillons de donneurs sains.

En raison des variations inter-laboratoires et de la précision du test, nous recommandons de ne pas fixer de valeur seuil inférieure à 40 pg/ml.

Remarques:

- Bühlmann recommande l'utilisation d'une zone d'incertitude incluant $\pm 20\%$ de la valeur seuil technique individuelle.
- Pour utiliser la valeur technique individuelle, le test EK-CAST doit être conforme aux critères de contrôle qualité.
- Les valeurs seuil ne sont qu'indicatives. Des valeurs seuil cliniquement significatives devraient être établies au moyen d'études complémentaires par chaque laboratoire.

Flow-CAST®

En raison de ce taux d'activation généralement plus bas que pour les autres allergènes, une valeur seuil plus basse devra être préférée mais l'indice de stimulation (SI = stimulation allergène / contrôle négatif) sera un critère de discrimination supplémentaire pour le test Flow-CAST®.

RECOMMANDATIONS POUR L'UTILISATION DES TESTS CAST® DANS LES ALLERGIES AUX MEDICAMENTS

Le diagnostic des allergies aux médicaments est complexe en raison de la diversité des symptômes et de leur patho-physiologie hétérogène (2-4). Ainsi, il est indiqué de respecter les consignes suivantes lors de l'utilisation diagnostique des tests CAST® pour des allergènes médicamenteux :

CONDITIONS CLINIQUES ADEQUATES POUR L'UTILISATION DES TESTS CAST®:

Les réactions allergiques de type immédiat aux médicaments ou aux substances chimiques peuvent être causées dans l'organisme par la stimulation IgE médiée ou non IgE médiée (pseudo-allergies) de cellules effectrices (basophiles, mastocytes, éosinophiles, etc.).

On peut considérer que les tests CAST® reproduisent les événements ci-dessus, dans la mesure où les leucocytes du patient sont stimulés *in vitro*. Cependant, comme au cours des tests CAST®, seuls des allergènes purs dans un système de tampon défini, sans les composants du plasma (facteurs de coagulation, complément, etc.) sont utilisés, la méthode peut uniquement être considérée comme un modèle simplifiée de la situation *in vivo*.

Les tests CAST® sont optimisés pour mettre uniquement à jour des allergies de type immédiat (type I) ou des pseudo-allergies. Ils ne sont pas susceptibles de diagnostiquer des allergies de type retardé (de type IV par ex.). Ainsi, l'utilisation diagnostique de ces tests devrait se limiter aux symptômes suivants:

- Anaphylaxie et réactions anaphylactiques
- Rhinite et conjonctivite allergiques
- Asthme bronchique
- Urticaire / angioedème ou oedème angioneurotique
- Réactions gastro-intestinales.

CONDITIONS CLINIQUES INADEQUATES POUR L'UTILISATION DES TESTS CAST®:

Les tests CAST® sont moins susceptibles de donner des résultats positifs dans le cas de réactions médiées par les cellules T. Sur la base des mécanismes patho-génétiques connus, nous ne recommandons pas d'utiliser en routine les tests CAST® chez les patients atteints des maladies suivantes:

- Exanthèmes maculopapulaire et pustulaire
- Angéite
- Dermatite allergique de contact
- Exanthèmes bulleux, tels que le syndrome de Stevens-Johnson ou la maladie de Lyell.

ALLERGENES AUTRES QUE CEUX FOURNIS PAR BÜHLMANN

L'utilisation d'allergènes autres que ceux fournis par les laboratoires Bühlmann suppose le respect des consignes suivantes:

- Pas d'allergènes liés à une matrice (en phase solide ou liquide)
- Pas de préparation d'allergène contenant des sulfidoleucotriènes
- Pas de préparation d'allergène contenant des composés cytotoxiques (stabilisateurs, conservateurs) tels que le glycérol, le phénol, l'azide de Na ou le merthiolate (thimérosal).

Afin d'obtenir la procédure de préparation des allergènes pour les tests CAST®, n'hésitez pas à prendre contact avec votre distributeur local ou la filiale Bühlmann de votre pays ou encore Bühlmann Laboratories AG directement. Une fiche d'information spécifique est disponible à ce sujet, sur demande.

SCOPO DEL DOSAGGIO

Gli Allergeni CAST[®] della BÜHLMANN sono utilizzati per la stimolazione *in vitro* dei leucociti nei kit CAST[®]: CAST[®]-2000 ELISA (EK-CAST) e Flow-CAST[®] (FK-BAT) Kit. Gli Allergeni CAST[®] di natura proteica sono forniti in forma liquida, concentrata e stabile, senza alterazioni della loro struttura. Gli allergeni di natura chimica ed i farmaci sono forniti in forma liofila. Tutti gli Allergeni CAST[®] sono predosati ed infialati pronti rispettivamente per la diluizione o la ricostituzione.

Gli Allergeni CAST[®] sono disponibili come reattivi separati, non compresi nel kit base CAST[®].

ISTRUZIONI PER L'USO

Ricostituire (o diluire) gli allergeni prima dell'uso, secondo le seguenti istruzioni:

- Aggiungere 250 µl di tampone di stimolazione CAST[®] al flacone dell'allergene e vortexare brevemente.
- Utilizzare la soluzione dell'allergene secondo la procedura del dosaggio CAST[®] (vedi le corrispondenti istruzioni per l'uso).

Si raccomanda di stimolare le cellule, oltre che con la soluzione dell'allergene ottenuta secondo la procedura di cui sopra, anche con sue ulteriori diluizioni (*i.e.* 1:5 in tampone di stimolazione). Le cellule di alcuni pazienti sono stimulate solo a basse o alte concentrazioni, mentre altre reagiscono ad un ampio range di concentrazione dell'allergene.

CONSERVAZIONE E STABILITA'

Gli allergeni a confezione integra sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza riportata sul flacone.

IMPORTANTE: Utilizzare un nuovo flacone di allergene per ogni seduta.

TEMPO OTTIMALE PER LA VALUTAZIONE DEL PAZIENTE

Il momento ottimale per la valutazione del paziente con i dosaggi CAST[®] è compreso tra 3 e 12 settimane dopo la reazione avversa all'allergene, sebbene la reattività specifica dei basofili persiste in molti casi più a lungo. I dosaggi CAST[®] possono anche evidenziare una potenziale reazione avversa ad uno specifico allergene senza storia clinica precedente. In determinate circostanze, i dosaggi CAST[®] possono essere utilizzati come test di screening o test prognostici per possibili reazioni avverse a farmaci correlati (e.g. antibiotici betalattamici, farmaci anti-infiammatori non steroidei).

Il campione di sangue per i dosaggi CAST[®] deve essere prelevato prima di eseguire prove cutanee o test di provocazione *in vivo* con qualunque allergene. L'esposizione agli allergeni può provocare una generale attivazione dei leucociti del paziente.

LIMITAZIONI

IL RISULTATO NEGATIVO DI UN DOSAGGIO CAST[®] PER UN ALLERGENE SPECIFICO NON ESCLUDE LA POSSIBILITA' DI REAZIONI CLINICHE, ANCHE SEVERE, DEL PAZIENTE VERSO QUELL'ALLERGENE.

I pazienti con anamnesi di reazioni avverse ad allergeni proteici o farmaci e CAST[®] negativi, dovrebbero essere studiati con altri metodi, come test di provocazione *in vivo* o test cutanei (ove appropriati) prima della somministrazione di ogni farmaco o dell'esposizione all'allergene.

ALLERGENI PROTEICI E MISCELE

Le seguenti istruzioni sono valide per i gruppi di allergeni riportati di seguito e le loro miscele:

- GRAMINACEE, ERBE ED ALBERI
- MUFFE
- VELENO D'INSETTI, INSETTI, ACARI E DERIVATI ANIMALI
- ALBUMINE
- ALIMENTI

CONCENTRAZIONE DELL'ALLERGENE E CUT-OFF

In generale, gli allergeni proteici contengono 25 ng di estratto per flacone. La diluizione dell'allergene con 250 µl di tampone di stimolazione porta ad una concentrazione di 100 ng/ml per flacone.

CAST[®]-2000 ELISA

Per ALLERGENI INALANTI, ALIMENTI, LATEX e α-AMILASI, dovrebbero essere considerati positivi i soggetti con stimolazione netta **MAGGIORE DI 200 pg/ml di sLT**.

In un recente studio (1) il cut-off clinico per L'APE (BAG2-I1) e LA VESPA (BAG2-I3) è stato definito **270 pg/ml** con una zona grigia di 200-270 pg/ml.

Flow-CAST[®]

I campioni stimolati con ALLERGENI INALANTI o ALIMENTARI, con percentuale di attivazione dei basofili (percentuale di CD63 positivi) $\geq 15\%$ devono essere considerati positivi. I campioni stimolati con VELENO DI INSETTI o LATEX devono essere considerati positivi con percentuale di attivazione $\geq 10\%$.

Per ulteriori informazioni consultare i fogli illustrativi dei singoli allergeni sul sito:

www.buhmannlabs.ch/2-1-5-Allergens.php

FARMACI, ALLERGENI CHIMICI ED ADDITTIVI ALIMENTARI

Le seguenti istruzioni sono valide per i gruppi di allergeni riportati di seguito e le loro miscele:

- ANTIBIOTICI
- ANALGESICI
- ANESTETICI / MIORILASSANTI
- ADDITTIVI ALIMENTARI
- AMBIENTALI / OCCUPAZIONALI

CONCENTRAZIONE E CUT-OFF

Tutti i farmaci, gli allergeni chimici e gli additivi alimentari sono caratterizzati da proprietà di inibizione o di stimolazione aspecifica. La concentrazione dell'allergene ottimale per la stimolazione è stata determinata in base a queste proprietà. Per la concentrazione dei singoli allergeni, consulta i fogli illustrativi degli allergeni sul sito www.buhmannlabs.ch.

Generalmente, farmaci, allergeni chimici ed additivi alimentari causano sia minor rilascio di sLT sia minore attivazione dei basofili, rispettivamente. Quindi, per questi allergeni devono essere applicati valori di cut-off più bassi. I cut-off proposti per ogni singolo allergene possono essere trovati nei fogli illustrativi degli allergeni sul sito www.buhmannlabs.ch.

CAST[®]-2000 ELISA

A causa del modesto aumento del rilascio di sLT con questo tipo di allergeni, Bühlmann ha stabilito, per ogni singola sostanza, un CUT-OFF TECNICO INDIVIDUALE. I valori sono ottenuti dalla media + 3SD dei valori di stimolazione netta di 20 campioni prelevati da volontari sani. A causa della variabilità interlaboratorio e della precisione del dosaggio, i valori raccomandati di cut-off sono di almeno 40 pg/ml.

Note:

- Bühlmann consiglia di usare una zona grigia includendo $\pm 20\%$ del cut-off tecnico.
- Per usare i cut-off tecnici, il test deve rientrare nei limiti di accettazione del controllo di qualità del EK-CAST.
- I valori di cut-off devono essere considerati come indicativi. Il cut-off clinico deve essere stabilito da ogni singolo laboratorio e da ulteriori studi.

Flow-CAST®

A causa del modesto incremento di rilascio di sLT o dell'attivazione dei basofili con questo tipo di allergeni, Bühlmann propone l'uso dell'indice di stimolazione (SI) come criterio discriminante aggiuntivo per il Flow-CAST®. Lo SI è definito come la stimolazione dell'allergene diviso per il controllo negativo.

RACCOMANDAZIONE PER L'USO DEL CAST® NELLA DIAGNOSI DI ALLERGIA DA FARMACI

L'allergia a farmaci è un settore complesso, caratterizzato da varie sintomatologie e patogenesi (2-4). Le seguenti raccomandazioni devono essere utilizzate A SOLO SCOPO INDICATIVO per dosaggi CAST® in pazienti con sospetta allergia a farmaci o sostanze chimiche:

CONDIZIONI CLINICHE VALUTABILI CON I DOSAGGI CAST®

Le reazioni avverse di tipo immediato verso farmaci e sostanze chimiche possono causare la stimolazione delle cellule effettrici (e.g. basofili, mast cellule e eosinofili) *in vivo* sia per via IgE mediata sia per via alternativa (cosiddette pseudo allergie).

I dosaggi CAST possono essere considerati come modello di questi fenomeni, stimolando *in vitro* i leucociti dei pazienti. Tuttavia, poiché i dosaggi CAST® utilizzano allergeni puri ed un sistema di tamponi privo di componenti plasmatiche (e.g. fattori della coagulazione e complemento) devono essere considerati come un modelli semplificati della situazione *in vivo*.

I dosaggi CAST® sono utilizzabili esclusivamente nello studio delle reazioni allergiche di tipo immediate (tipo I) e nelle pseudo-allergie; essi non possono essere utilizzati nello studio delle reazioni ritardate (tipo IV).

I dosaggi CAST® dovrebbero essere utilizzati nel caso di:

- Reazioni anafilattiche ed anafilattoidi
- Rinocongiuntivite
- Asma bronchiale
- Orticaria/Angioedema
- Reazioni gastrointestinali.

CONDIZIONI CLINICHE NON VALUTABILI CON I DOSAGGI CAST®

I dosaggi CAST® sono meno adatti allo studio delle reazioni mediate da linfociti T. Sulla base dei meccanismi patogenetici noti, raccomandiamo di non utilizzare di routine i dosaggi CAST® nel seguente gruppo di patologie:

- Esantema maculopapulare ed esantema pustoloso
- Vasculiti
- Dermatite allergica da contatto
- Esantema bolloso, tipo sindrome di Stevens-Johnson e malattia di Lyell

ALLERGENI DA ALTRA PROVENIENZA

Devono essere utilizzate le stesse regole già illustrate per gli allergeni Bühlmann.

Utilizzando allergeni da altre fonti, bisogna tener conto delle seguenti limitazioni:

- No allergeni legati a matrice (solida o liquida)
- No preparazioni contenente sulfidoleucotrieni
- No preparazioni di allergeni contenenti componenti citotossici (stabilizzanti, conservanti) come glicerolo, fenolo, sodio azide o mertiolato (thimerosal).

Per la procedura d'uso di allergeni non Bühlmann nei dosaggi CAST® rivolgersi al distributore locale o contattare la Bühlmann Laboratories AG. E' disponibile a richiesta una metodica dedicata.

USO PREVISTO

Los Alergenos CAST[®] de BÜHLMANN están destinados a la estimulación de leucocitos *in vitro* en los Ensayos CAST[®], es decir, ELISA CAST[®]-2000 (EK-CAST), y Flow-CAST[®] (FK-BAT). Los Alergenos CAST[®] constituidos por proteínas son extractos de alergen presentados en una forma líquida concentrada estable, sin modificación covalente. Los Alergenos CAST[®] de compuestos químicos y fármacos se suministran en forma liofilizada. Todos los alergen CAST[®] están pesados y cargados en una forma lista para diluir o disolver, respectivamente.

Los Alergenos CAST[®] están disponibles como reactivos separados y no se incluyen en los kits de los Ensayos CAST[®].

INSTRUCCIONES DE USO

Disuelva (o diluya) el alergen antes de su uso en los Ensayos CAST[®] del modo siguiente:

- Añada 250 µl de tampón de estimulación CAST[®] al vial y agite con el vortex brevemente.

- Utilice la solución de alergen según los protocolos del Ensayo CAST[®] (véanse las instrucciones de uso correspondientes).

De manera adicional a la concentración más alta después de la dilución del alergen descrita anteriormente, recomendamos estimular también las células con solución diluida del alergen (dilución adicional de p. ej. 1:5 con tampón de estimulación). Algunos pacientes muestran individualmente una estimulación positiva únicamente a concentraciones de alergen altas o bajas, mientras que otros reaccionan positivamente en una amplia gama de concentraciones de alergen.

ALMACENAMIENTO Y DURACIÓN

Almacene los Alergenos CAST[®] sin abrir a 2-8°C hasta la fecha de caducidad impresa en el vial.

¡IMPORTANTE: ¡Utilice un vial nuevo de alergen cada vez que se realice una nueva estimulación celular!

MOMENTO DE LA EVALUACIÓN DEL PACIENTE

El momento óptimo para la evaluación diagnóstica de un paciente con los Ensayos CAST[®] es entre 3 y 12 semanas después de una reacción adversa a los alergen sospechosos, aunque la reactividad específica de los basófilos persiste mucho más tiempo en muchos casos. Los Ensayos CAST[®] también pueden detectar una reacción adversa potencial a un alergen específico incluso sin antecedentes de reacción clínica previa a dicho alergen. En algunas circunstancias los Ensayos CAST[®] pueden por tanto utilizarse como un ensayo de cribado o una prueba pronóstica para futuras reacciones adversas con una serie de fármacos relacionados (p. ej. antibióticos betalactámicos, fármacos antiinflamatorios no esteroideos).

La muestra de sangre para los Ensayos CAST[®] debe recogerse antes de las pruebas cutáneas o de la provocación *in vivo* del paciente con un alergen causante o sospechoso. La exposición al alergen puede causar una activación general de los leucocitos del paciente.

LIMITACIONES

UN RESULTADO NEGATIVO DEL ENSAYO CAST[®] PARA UN ALERGENO ESPECÍFICO NO PUEDE EXCLUIR LA POSIBLE APARICIÓN DE UNA REACCIÓN CLÍNICA (INCLUSO GRAVE) EN UN PACIENTE. Por tanto, los pacientes con antecedentes de reacciones adversas a alergen de proteínas o fármacos con un resultado negativo del Ensayo CAST[®] deben

seguirse con un método adicional, como una provocación *in vivo* o una prueba de punción de la piel (si está indicada), antes de que se administre cualquier fármaco o se exponga al paciente al alergen.

ALERGENOS DE PROTEÍNAS Y COMBINACIONES

Estas instrucciones se aplican al siguiente grupo de alergen por inhalación y alimentarios y a las mezclas de dichos alergen:

- GRAMÍNEAS, HIERBAS Y ÁRBOLES
- MOHOS
- VENENOS DE INSECTOS, INSECTOS, ÁCAROS Y ANIMALES SUPERIORES
- ALBÚMINAS
- ALIMENTOS

CONCENTRACIONES Y VALORES DE CORTE

Los alergen de proteínas contienen 25 ng de extracto concentrado de proteínas por vial, en general. La dilución del alergen con 250 µl de tampón de estimulación produce una concentración de 100 ng/ml en el vial.

ELISA CAST[®]-2000

Para los ALERGENOS POR INHALACIÓN y ALIMENTARIOS, así como para LÁTEX y α-AMILASA, proponemos que los individuos con un producto de estimulación neta **SUPERIOR A 200 pg/ml sLT** se consideren como positivos para el alergen probado.

Según un estudio reciente (1), el valor de corte clínico del **VENENO DE LA ABEJA** (BAG-I1) y de **LA AVISPA** (BAG-I3) se ha definido a **270 pg/ml** y la zona gris se ha fijado a 200 a 270 pg/ml.

Flow-CAST[®]

Pueden considerarse positivas las muestras estimuladas con ALERGENOS POR INHALACIÓN y ALIMENTARIOS que muestren una tasa de activación de basófilos (% CD63 positivo) ≥ 15 %. Las muestras estimuladas ≥ 10 % con VENENOS DE INSECTOS o LÁTEX pueden considerarse positivas.

Para informarse sobre el uso de los alergen, consulte al folletto de alergen al sitio web www.buhmannlabs.ch/2-1-5-Allergens.php.

ALERGENOS DE FÁRMACOS, ALERGENOS QUÍMICOS Y ADITIVOS ALIMENTARIOS

Estas instrucciones se aplican al grupo de alergen siguiente y a las mezclas de dichos alergen:

- ANTIBIÓTICOS
- ANALGÉSICOS
- ANESTÉSICOS / MIORELAJANTES
- ADITIVOS ALIMENTARIOS
- AMBIENTAL / LABORAL.

CONCENTRACIONES Y VALORES DE CORTE

Todos los alergen de fármacos, químicos y aditivos alimentarios se caracterizan por sus propiedades de inhibición y estimuladoras inespecíficas. Basándose en estas evaluaciones se estableció la concentración de alergen más alta posible para la estimulación celular. Para estas concentraciones de alergen consulte al folletto de alergen al sitio web www.buhmannlabs.ch.

En general, los fármacos, los productos químicos y los aditivos alimentarios causan una menor liberación de sLT y activación de basófilos. Por tanto, deben aplicarse valores de corte inferiores para estos alergen. Los valores de

corte propuestos para cada alérgeno individual pueden encontrarse al folleto de alérgenos al sitio web www.buhlmannlabs.ch.

ELISA CAST®-2000

Debido al reducido aumento de liberación de sLT con este tipo de alérgenos, Bühlmann estableció para cada alérgeno un VALOR DE CORTE TÉCNICO INDIVIDUAL. Los valores representan la media + 3DE de la estimulación neta de hasta 20 muestras estimuladas de donantes de sangre normales. A causa de la variación entre laboratorios y a la precisión del ensayo, los valores de corte recomendados no se sitúan por debajo de 40 pg/ml.

Notas:

- BÜHLMANN recomienda de utilizar una zona gris incluyendo una gama de +/-20% de los valores de corte individuales.
- Para aplicar los valores de corte técnicos y individuales los datos del control de calidad del EK-CAST deben ser satisfechos.
- Los valores de corte deben utilizarse únicamente a modo orientativo. Debe establecerse un valor de corte clínicamente relevante por cada laboratorio y por estudios adicionales, respectivamente.

Flow-CAST®

Debido al reducido aumento de la liberación de sLT o de la activación de basófilos con este tipo de alérgenos, Bühlmann propone para el Flow-CAST® el uso de un índice de estimulación (IE) como criterio de discriminación adicional. El IE se define como la estimulación bruta dividida por el valor del control negativo.

RECOMENDACIONES PARA EL USO DE LOS ENSAYOS CAST® EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ALERGI A FÁRMACOS

El diagnóstico de la alergia a fármacos es un terreno complejo con síntomas y patofisiología heterogéneos (2-4). Por tanto, y únicamente A MODO ORIENTATIVO, deben considerarse las siguientes recomendaciones cuando se utilizan los Ensayos CAST® para probar la alergia a fármacos y/o productos químicos de los pacientes.

SITUACIONES CLÍNICAS ADECUADAS PARA LA EVALUACIÓN CON ENSAYOS CAST®

Las reacciones adversas inmediatas a fármacos y productos químicos pueden estar causadas *in vivo* por la estimulación de células efectoras (p. ej. basófilos, mastocitos y eosinófilos), mediada por IgE o no (denominadas pseudoalergias). Los Ensayos CAST® pueden considerarse un modelo de tales acontecimientos, en el que los leucocitos de los pacientes se estimulan *in vitro*. Sin embargo, como los ensayos CAST® usan alérgenos puros y un sistema de tampón definido sin componentes del plasma (p. ej. factores de la coagulación o complemento), el método sólo puede considerarse un modelo simplificado de la situación *in vivo*.

Los Ensayos CAST® están optimizados únicamente para la detección de las reacciones alérgicas de tipo inmediato (tipo I) y pseudoalérgicas. No es probable que los Ensayos CAST® detecten tipos retardados de reacciones alérgicas (p. ej. reacciones de tipo IV). Por tanto, sólo deben utilizarse para el diagnóstico de reacciones de tipo inmediato, sobre todo síntomas clínicos como los siguientes:

- Anafilaxia y reacciones anafilactoides
- Rinoconjuntivitis
- Asma bronquial
- Urticaria/Angioedema
- Reacciones gastrointestinales.

SITUACIONES CLÍNICAS NO ADECUADAS PARA LA EVALUACIÓN CON ENSAYOS CAST®

Es menos probable que los Ensayos CAST® produzcan resultados positivos en caso de reacciones mediadas por células T. En base a los mecanismos patogénicos conocidos no recomendamos evaluar de manera rutinaria con los Ensayos CAST® al siguiente grupo de pacientes que muestren:

- Exantema maculopapular y exantema pustular
- Vasculitis
- Dermatitis alérgica de contacto
- Exantemas bullosos, como el síndrome de Stevens-Johnson y la enfermedad de Lyell.

ALERGENOS ESPECÍFICOS DEL CLIENTE



Deben aplicarse las mismas reglas establecidas para los Alérgenos CAST® de Bühlmann. Se pueden utilizar alérgenos de otras fuentes con las siguientes limitaciones:


- No deben utilizarse alérgenos unidos a matriz (fase sólida o líquida).
- No deben utilizarse preparaciones de alérgenos que contengan sulfidoleucotrienos
- No deben utilizarse preparaciones de alérgenos que contengan compuestos citotóxicos (estabilizantes, conservantes) como fenol, glicerol, azida sódica o mertiolato (timerosal).

Para informarse sobre el procedimiento para probar alérgenos específicos del cliente con los ensayos CAST® consulte a su distribuidor local o contacte con Bühlmann Laboratories AG. Está disponible a petición una hoja de información especial.

1. Scherer, K *et al.*: Cellular in vitro assays in the diagnosis of hymenoptera venom allergy. *Int Arch Allergy Immunol*, (2007) in press
2. Anderson, J. A.: Allergic reactions to drugs and biological agents. *JAMA* 268, 2845-2857 (1992).
3. Patterson, R., *et al.*: Drug allergy and protocols for management of drug allergies. *Allergy Proc.* 15, 239-264 (1994).
4. *Immunol. Allergy Clin. North. Am.* 11 (3), 1ff. (1991)

**APPENDIX II
SYMBOLS/ SYMBOLE/ SYMBOLES/ SIMBOLI/ SIMBOLOS**

Symbol	Explanation
	Consult Instructions for Use- Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device <i>In Vitro</i> Diagnostikum Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>

Symbol	Explanation
	Temperature limitation Zulässiger Temperaturbereich Limites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura



Printing Date
2007-11-12