

PREMESSE

Non esistono dati ufficiali sulla causa di elevato rischio di mortalità causato da allergia a farmaci. Per questo motivo si rende necessario avere delle risposte in modo sicuro e veloce

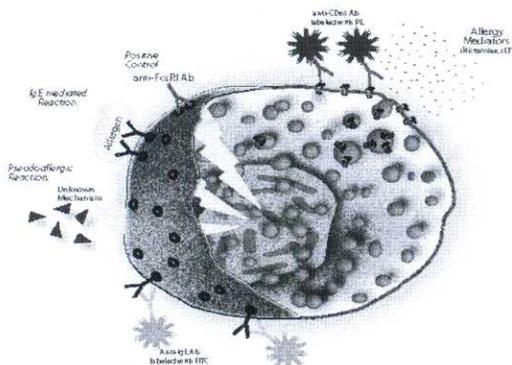
Il primo caso di decesso in conseguenza di broncospasmo, in relazione ad assunzione di aspirina, risale a 100 anni fa.

Questo tipo di intolleranza ai farmaci viene anche definita come pseudoallergia, poiché non IgE mediata

Diagnosi di intolleranza a farmaci

Difficoltà:

- Test cutanei sono generalmente negativi
- Non è possibile avere conferma dal dosaggio di IgE specifiche
- Test di provocazione implicano rischi di shock anafilattico



Test CAST®

Un test di provocazione cellulare in vitro:

- 1) Simula la reazione allergica nei tessuti utilizzando cellule analoghe derivanti del sangue.
- 2) Può essere genericamente usato in pazienti con storia clinica positiva, ma test cutanei e dosaggi per le IgE specifiche negativi o dubbi.
- 3) Si compone di tre passaggi:
 - Separazione delle cellule (leucociti)
 - Stimolazione cellulare con l'allergene specifico
 - Valutazione del rilascio dei sulfidoleucotrieni in risposta alla stimolazione e dell'espressione dei recettori CD63 sui basofili

BÜHLMANN LaboratoriesAG Baselstrasse, 55 4124 Schönenbuch Basel	Relazione Tecnica <i>“Quali vantaggi nell’utilizzo del test Flow2CAST® per verificare l’intolleranza a farmaci”</i>	FLOW2 CAST®
--	---	--------------------

Quali vantaggi ci sono nell’utilizzo del test CAST®

- Test *in vitro* senza rischi per il paziente
- Nei casi in cui non sono consigliabili test cutanei o di provocazione in vivo
- Consigliabile in pazienti pediatrici
- Alta specificità

I risultati del test CAST® forniscono preziose informazioni sulla sensibilizzazione dei pazienti prima di considerare l’esclusione dell’utilizzo del farmaco.

INDICAZIONI

“...Oltre a studiare l’eventuale responsabilità del o dei medicinale/i (studio retrospettivo), la prova può servire anche per valutare se un prodotto può essere assunto o somministrato come farmaco alternativo. Un tipico esempio di questa modalità d’indagine è rappresentato dagli studi predittivi effettuati con anestetici locali per interventi odontoiatrici...” (sito “Allergostop” www.allergostop.it)

“...Da sottolineare che con un semplice prelievo di sangue può essere effettuata diagnosi senza nessun pericolo per la persona, al contrario dei test cosiddetti “in vivo”.

Il Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) risulta abbastanza completo sotto l’aspetto dello studio dei meccanismi patogenetici alla base delle RAF, in quanto può mettere in evidenza reazioni non immunologiche con attivazione aspecifica dei mastociti/basofili, reazioni immunologiche di vario tipo comprese quelle da immunocomplessi e da attivazione del complemento e della via alternativa, attivazione della cascata coagulativa e della fibrinolisi con produzione di anafilossine.

Con questa tecnica viene superata, anche se non completamente, tutta la complessa problematica della diagnosi di “allergia” ai farmaci legata, non solo, alle ancora incomplete notizie che si hanno sui meccanismi causa di queste reazioni ma, soprattutto, alle difficoltà diagnostiche. Queste sono essenzialmente legate a prove sul soggetto (in vivo) e/o a test di laboratorio (in vitro).

Per quanto concerne i test in vivo, benché queste tecniche siano da considerarsi “gold standard”, comportano lunghi tempi di indagine che si aggiungono ai pericoli legati alla somministrazione di un farmaco all’individuo, in particolare rappresentati dalla probabile sensibilizzazione verso il medicinale provato e dall’eventuale insorgenza di reazioni indesiderate, tra cui anche lo shock anafilattico.

Infatti, per operare nel massimo rispetto della sicurezza del soggetto è importante che la prova venga effettuata da allergologi esperti ed in ambiente protetto con disponibilità di attrezzature atte alle emergenze sanitarie.

D’altra parte il test allergologico in vitro per antonomasia, cioè il RAST, è specifico solo per la ricerca delle IgE allergene-specifiche. Ciò implica che può rilevare solo le reazioni legate a tali

BÜHLMANN LaboratoriesAG Baselstrasse, 55 4124 Schönenbuch Basel	Relazione Tecnica <i>“Quali vantaggi nell'utilizzo del test Flow2CAST® per verificare l'intolleranza a farmaci”</i>	FLOW2 CAST®
--	---	--------------------

immunoglobuline, che nel caso delle RAF appaiono di scarso rilievo statistico e, per di più, relative a ben pochi e determinati farmaci, quali insulina, penicillina, amoxicillina ed ampicillina.

Invece, grazie all'impiego del CAST è possibile evidenziare su sangue se una persona è “allergica” verso un numero illimitato di prodotti, in tempi brevi, senza far assumere alcun tipo di medicinale al paziente e quindi senza pericoli per la persona. (sito “Allergostop” www.allergostop.it)

Diagnosi di farmacoallergia

Criticità dei valori di riferimento e livelli decisionali nella diagnosi in vitro delle reazioni avverse ai farmaci

Martelli M., Bergonzi S., Turra F.¹
Ospedale Maggiore - Bologna - Laboratorio Analisi

¹*Ospedale di Bentivoglio - Bologna - Laboratorio Analisi*

(PANDORA n° 2 maggio-agosto 2006)

CARATTERISTICHE del TEST e METODOLOGIA

Cos'è il C.A.S.T.

Il Cellular Antigen Stimulation Test (CAST) è un metodo di laboratorio, prodotto dalla Buhlmann Laboratories AG (www.buhlmannlabs.ch) che permette di rilevare se una persona è “allergica” mediante una tecnica che prevede due fasi di indagine partendo da un semplice prelievo di sangue venoso.

Tramite questo test è possibile valutare sia le reazioni allergiche propriamente dette sia le reazioni ad esse simili, come quelle chiamate pseudoallergiche.

Si presta quindi ad essere impiegato come il RAST per la diagnosi delle allergie vere e proprie, ma estende le sue possibilità diagnostiche anche a quelle reazioni che il RAST può diagnosticare raramente, come ad esempio le farmacoallergie.

Quindi, oltre ad impiegare allergeni tradizionali come pollini, polveri, muffe, epiteli, alimenti e così via, permette di stimolare le cellule anche con sostanze o prodotti, specie chimici, verso cui una persona potrebbe manifestare reazioni indesiderate.

Caratteristica del test è quella, che a differenza del RAST, viene mimata in provetta la tipica reazione “allergica” con l'intervento di cellule e mediatori presenti nel sangue del soggetto da studiare.

BÜHLMANN LaboratoriesAG
Baselstrasse, 55
4124 Schönenbuch Basel

Relazione Tecnica
“Quali vantaggi nell’utilizzo del
test Flow2CAST® per verificare
l’intolleranza a farmaci”

FLOW2 CAST®

Infatti, dal sangue venoso prelevato al paziente, vengono isolate le cellule che sono coinvolte nel meccanismo allergico.

Successivamente queste cellule sono messe a contatto con l’allergene, la sostanza o il prodotto che si ritengono causa dell’allergia.

In caso di reazione, queste cellule producono delle sostanze (i sulfidoleucotrieni) come avviene normalmente nell’organismo di un allergico quando si verifica una reazione “allergica“.

Tra l’altro i sulfidoleucotrieni sono tra i principali mediatori della sintomatologia allergica, al pari dell’istamina.

Una volta realizzata in provetta l’eventuale reazione, è possibile determinare, mediante tecnica immunoenzimatica/ citofluorimetrica la quantità di sulfidoleucotrieni prodottasi a seguito della stimolazione “allergica“ e, conseguentemente, valutare se vi è “allergia” o meno.

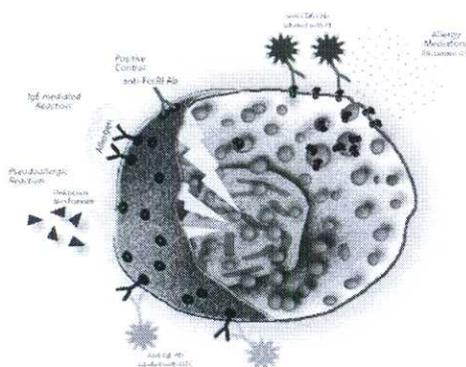
Come già detto, il metodo CAST si presta molto bene ad individuare anche reazioni differenti da quelle classiche, tipo quelle da pollini.

In particolare sembra notevolmente adatto all’ utilizzo nelle reazioni scatenate da sostanze chimiche come i medicinali e gli additivi alimentari (coloranti e conservanti).

(sito “Allergostop” www.allergostop.it)

FLOW-CAST® Check-List

Materiale necessario non fornito nel kit



SEPARAZIONE

BÜHLMANN LaboratoriesAG Baselstrasse, 55 4124 Schönenbuch Basel	Relazione Tecnica <i>“Quali vantaggi nell’utilizzo del test Flow2CAST® per verificare l’intolleranza a farmaci”</i>	FLOW2 CAST®
--	---	--------------------

Campione: Sangue-EDTA; volume minimo richiesto 3.5 ml/paziente
Centrifuga 200g -1000g
Pipette di precisione con puntali monouso 100 µl -1000 µl
Rack porta provette
Provette (5 ml) *preferibilmente fondo conico*
Carta da Blotting

STIMOLAZIONE

Cilindro da 50 ml
60 ml acqua sterile, ultra pura e apirogena
Provette per fluorocitometro (5 ml)
Pipette di precisione con puntali monouso 10-100 µl & 100 µl -1000 µl
Parafilm
Bagno termostato a 37°C
Pipette multishot con puntali monouso 50 µl e 20 µl

ANALISI

Frigor 2-8°C
Cilindro da 500 ml
400 ml di acqua distillata o deionizzata
Bottiglia da 500 ml
Pipette di precisione con puntali monouso 1-5 ml
Centrifuga 200g -1000g
Fluorocitometro con laser a 488 nm per la rilevazione della marcatura con FITC / PE

In Allegato Bibliografia, Flyer tecnico e metodica:

FK-CCR CF038-01E.pdf

080226_FK-CCR IFU_CE.pdf