

exbio

BasoFlowEx Kit

100 testów | Nr kat. ED7043

IVD **CE** ₂₂₆₅

Instrukcja użycia (PL)

Wersja: ED7043_IFU_v9_PL

Data wydania: 13.02.2026 r.

Symbole stosowane w oznakowaniu urządzeń

IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Przechowywać poza zasięgiem światła słonecznego
CE ₂₂₆₅	Znak zgodności CE Numer identyfikacyjny organu notyfikowanego		Utrzymywać w suchości Chronić przed deszczem
	Producent	CONTENTS	Zawartość
UDI	Unikalny identyfikator urządzenia	UKCA	Znak UKCA
	Zapoznaj się z instrukcją użycia		
	Zawiera ilość wystarczającą na <n> testów		
REF	Numer katalogowy		
LOT	Kod partii		
	Termin przydatności do użycia		
	Ograniczenie temperatury		

1. Przeznaczenie

BasoFlowEx Kit jest przeznaczony do oznaczania aktywacji bazofili w pełnej krwi obwodowej metodą cytometrii przepływowej.

Co jest wykrywane i/lub mierzone

Urządzenie BasoFlowEx Kit wykrywa i oblicza procentową zawartość aktywowanych bazofili (CD63+) wśród wszystkich granulocytów bazofilowych (CD203c+ SSC low).

Funkcje urządzenia

Urządzenie pomaga w diagnozowaniu alergii IgE-zależnej, jeśli jest stosowane w połączeniu ze swoistą stymulacją alergenem i odpowiednimi informacjami klinicznymi.

Kontekst stanu fizjologicznego lub patologicznego

Reakcja nadwrażliwości na substancję typu I (IgE-zależna) u pacjentów cierpiących na alergię w przypadku stosowania w połączeniu z alergenem.

Rodzaj testu

Nie zautomatyzowany

Ilościowy

Wymagany rodzaj próbek

Pełna krew z dodatkiem ludzkiej heparyny i EDTA jako środka przeciwzakrzepowego.

Populacja testowa

Do stosowania u pacjentów, u których podejrzewa się alergię, szczególnie w przypadkach, gdy tradycyjne metody diagnostyczne, takie jak testy punktowe lub testy oznaczania swoistych IgE w surowicy, mogą być niejednoznaczne, niepraktyczne lub mogą wiązać się z dużym ryzykiem dla pacjenta (np. test prowokacji alergenem).

2. Użytkownik

Urządzenie jest przeznaczone wyłącznie do profesjonalnego użytku laboratoryjnego. Nie służy do badań przyłóżkowych ani do samodzielnych badań.

Wymagania dotyczące kwalifikacji

Docelowy użytkownik powinien posiadać najnowszą wiedzę specjalistyczną w zakresie analizy cytometrii przepływowej komórek ludzkich, standardowych technik laboratoryjnych, w tym umiejętności pipetowania oraz bezpiecznego i właściwego obchodzenia się z próbkami pobranymi z organizmu ludzkiego.

Docelowy użytkownik musi przestrzegać normy EN ISO 15189 lub innych norm

krajowych jeśli takowe istnieją.

3. Zasada testu

Zasada działania testu opiera się na wykrywaniu markera powierzchniowego bazofili CD203c i markera aktywacji CD63, który jest wyrażany na zdegranulowanych bazofilach. Do wywołania aktywacji bazofili *in vitro* i późniejszej degranulacji konieczna jest obecność kontroli stymulacyjnej lub alergenu ⁽¹⁾. Kontrolę stymulacji pozytywnej stanowi próbka, w której bazofile są aktywowane przez monoklonalne przeciwciała anty-IgE i peptyd chemotaktyczny N-formyl-Met-Leu-Phe (fMLP), który aktywuje bazofile za pośrednictwem receptora fMLP (FPR1). Jeżeli w próbce znajduje się wystarczająca ilość cząsteczek IgE specyficznych dla alergenu, które wiążą się z powierzchnią bazofili za pośrednictwem receptora o wysokim powinowactwie FcεRI, dodatkowa pozytywna kontrola bodźca lub alergen powoduje mostkowanie receptorów, co prowadzi do pełnej aktywacji bazofili związanej z procesem usuwania zawartości mediatorów zapalnych z granulek cytoplazmatycznych do komórek zewnętrznych (degranulacja). Degranulacja powoduje między innymi ujawnienie cytoplazmatycznego białka transbłonowego CD63 na powierzchni bazofilów ⁽²⁾. Ten ostatni wykrywa się następnie za pomocą przeciwciała monoklonalnego anty-CD63 (klon MEM-259) sprzężonego z FITC. Populację bazofilów w mieszanke leukocytów identyfikuje się za pomocą przeciwciała monoklonalnego anty-CD203c (klon NP4D6) sprzężonego z PE.

4. Dostarczone odczynniki

Zawartość

Urządzenie BasoFlowEx Kit wystarcza na wykonanie 100 testów i dostarczany jest z następującymi odczynnikami:

Stimulation Buffer (5 liofilizowanych fiolek) 1 fiołka wystarcza na stymulację 20 próbek krwi (ED7043 1-).

Stimulation Control (2 fiołki liofilizowane) 1 fiołka wystarcza do stymulacji 25 kontroli pozytywnych (ED7043-2).

Staining reagent (1 fiołka) 2 ml gotowego koktajlu przeciwciał: anty-CD63, znakowane FITC i anty-CD203c, znakowane PE (ED7043-3).

Lysing Solution (1 butelka) zawierający 30 ml gotowego do użycia roztworu z utrwalaczem (ED7043 4-).

Skład

Tabela 1 Opis i stężenie składników aktywnych

Antygen	Fluorochrom	Klon	Izotyp	Stężenie (µg/ml)
CD63	FITC	MEM-259	IgG1	50
CD203c	PE	NP4D6	IgG1	13

5. Materiały wymagane, nie będące w zestawie

Probówki okrągłodenne (12 x 75 mm)

Woda dejonizowana (do odczynników)

Buforowany fosforanem roztwór soli (1X PBS), pH 7,2 – 7,4

Alergeny

6. Wymagany osprzęt

Pipeta automatyczna z jednorazowymi końcówkami (10 – 1000 µl) do pipetowania próbek i odczynników

Dozownik lub pipeta do cieczy z końcówkami jednorazowymi (5 ml) do dozowania wody dejonizowanej

Mieszadło wirowe

Termostat (inkubator powietrzny) lub łaźnia wodna umożliwiającą inkubację probówek w temperaturze 37°C

Źródło wzbudzenia laserowego cytometru przepływowego (488 nm), detektory rozpraszania, filtry optyczne i detektor emisji odpowiednie do zbierania sygnału z fluorochromu podane w Tabeli 2.

Tabela 2 Charakterystyka widmowa fluorochromów zastosowanych w urządzeniu

Fluorochrom	Wzbudzenie [nm]	Emisja [nm]
PE	488	576
FITC	488	525

UWAGA: Urządzenie zostało przetestowane na cytometrach przepływowych BD FACSCanto™ II (BD Biosciences) i DxFLEX (Beckman Coulter).

7. Przechowywanie

Przechowywać w temperaturze 2–8°C.

Unikać długotrwałej ekspozycji na światło.

Nie zamrażać.

Patrz punkt 10. Procedura (Przygotowanie odczynników), aby uzyskać informacje na temat stabilności podczas użycia i okresu ważności po pierwszym otwarciu, a także warunków przechowywania i stabilności roztworów roboczych (jeśli dotyczy).

8. Ostrzeżenia, środki ostrożności i ograniczenia użytkowania

Klasyfikacja zagrożeń GHS

OSTRZEŻENIE: Lysing Solution (ED7043-4) zawiera formaldehyd (nr CAS -50000-) i metanol (nr CAS -67561-) w stężeniach klasyfikowanych jako niebezpieczne.

Elementy etykiety	Hasło ostrzegawcze
	Niebezpieczeństwo
	
Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia	H315: Działa drażniąco na skórę. H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H319: Działa drażniąco na oczy. H331: Działa toksycznie w następstwie wdychania. H335: Może powodować podrażnienie dróg oddechowych. H341: Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne. H350: Może powodować raka. EUH071: Działa żrąco na drogi oddechowe.
Zwroty wskazujące środki ostrożności	P201: Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności. P260: Nie wdychać par. P280: Stosować rękawice ochronne/ochronę oczu/ochronę twarzy. P308+P313: W przypadku narażenia lub styczenia: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P403+P233: Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty.

Zapoznaj się z kartą charakterystyki (SDS) dostępną na stronie produktu pod adresem www.exbio.cz, aby uzyskać pełne informacje na temat zagrożeń stwarzanych przez substancje chemiczne i mieszaniny zawarte w produkcie oraz jak należy się z nimi obchodzić i jak je utylizować.

Zagrożenie biologiczne

Ludzkie próbki biologiczne i próbki krwi oraz wszelkie materiały mające z nimi kontakt są zawsze uważane za materiały zakaźne.

Stosować środki ochrony osobistej i bezpieczeństwa, aby uniknąć kontaktu ze skórą, oczami i błonami śluzowymi.

Postępuj zgodnie ze wszystkimi obowiązującymi przepisami prawa, regulacjami i procedurami dotyczącymi obchodzenia się z materiałami zakaźnymi i ich usuwania.

Oznaki pogorszenia jakości

Zazwyczaj dostarczane liofilizowane odczynniki mają postać białego proszku (bufor stymulujący i kontrola stymulująca). Nie używać odczynnika w przypadku zauważenia jakichkolwiek zmian w wyglądzie, na przykład zmian koloru lub upłynnienia.

Normalny wygląd roztworu Lysing Solution to klarowny płyn. Nie używać odczynnika w przypadku zauważenia jakiegokolwiek zmiany w jego wyglądzie, na przykład zmętnienia lub osadu.

Ograniczenie użytkowania

Nie stosować po upływie daty ważności podanej na etykiecie produktu.

9. Próbka

Do pobierania próbek należy używać krwi obwodowej pobranej z żyły do pojemnika na próbki sklasyfikowanego jako wyrób medyczny, zawierającego heparynę jako środek przeciwzakrzepowy lub EDTA.

Aby mieć pewność, że uzyskasz właściwą objętość napełnienia, postępuj zgodnie z instrukcją producenta probówki.

Próbkę krwi pobraną do probówki z heparyną należy przechowywać w temperaturze pokojowej i poddać obróbce w ciągu 48 godzin od pobrania.

Próbkę krwi pobraną do probówki z EDTA należy przechowywać w lodówce i poddać obróbce w ciągu 48 godzin od pobrania.

Próbki barwione zgodnie ze standardowym protokołem zostają utrwalone.

Utrwalone próbki można przechowywać przez jeden dzień w temperaturze 2-8°C, w ciemności.

Interferencja endogenna

Na podstawie badań literatury naukowej w Tabeli 3 przedstawiono endogenne źródła zakłóceń.

Tabela 3 Endogenna interferencja urządzenia

Interferencja endogenna	Wpływ	Odniesienie
Triglicerydy	Podwyższone stężenie trójglicerydów odpowiadało wyższej liczbie monocytów i bazofilów.	4
Erytrocyty	Niewystarczająca liza, obecność czerwonych krwinek w próbce może mieć wpływ na liczbę komórek.	5
Hemoglobina	Zhemolizowane próbki mogą dawać niewiarygodne wyniki.	6
Bilirubina	Bilirubina może zwiększać tło fluorescencji komórek ze względu na swoją wysoką autofluorescencję.	7
Lipemia	Wysokie stężenie lipidów we krwi może mieć wpływ na wyniki analizy cytometrii przepływowej niektórych populacji komórek krwi.	8

Zakłócenia egzogenne

Próbki starsze niż 48 godzin mogą dawać błędne wyniki.

Próbka przechowywana w lodówce może dawać błędne wyniki.

Alergeny wziewne (pyłki, roztocza, kurz) mogą zanieczyszczać otwarte próbki w laboratorium i powodować zwiększoną aktywację bazofili w kontroli negatywnej, która może być wyższa od wartości odcięcia i może obniżyć czułość testu. Próbki krwi i próbki stymulujące muszą być przykryte pokrywkami ⁽³⁾.

10. Procedura

Przygotowanie dostarczonych odczynników

Stimulation Buffer

Rozpuścić liofilizowany bufor stymulujący w 2 ml zdemineralizowanej wody. Niewykorzystaną część buforu należy przechowywać w temperaturze 2–8 °C przez okres do 5 dni. Alternatywnie bufor można podzielić na alikwoty, zamrozić jednokrotnie i przechowywać w temperaturze ≤ -20°C do późniejszego użycia.

UWAGA: unikać powtarzających się cykli zamrażania/rozmarzania.

Stimulation Control

Rozpuścić liofilizowaną kontrolę stymulacji w 0,25 ml zdemineralizowanej wody. Niewykorzystaną część odczynnika należy przechowywać w temperaturze 2–8°C przez okres do 30 dni. Alternatywnie odczynnik można podzielić na alikwoty, zamrozić jednokrotnie i przechowywać w temperaturze $\leq -20^{\circ}\text{C}$ do późniejszego użycia.

UWAGA: unikać powtarzających się cykli zamrażania/rozmarzania.

Staining Reagent

Odczynnik jest gotowy do użycia.

Lysing Solution

Odczynnik jest gotowy do użycia.

Barwienie próbek

1. Do badania próbki pochodzącej od jednego pacjenta należy oznaczyć trzy okrągłodenne probówki o wymiarach 12 x 75 mm odpowiednimi identyfikatorami i oznaczeniami:

kontrola reakcji negatywnej,

kontrola reakcji pozytywnej,

stymulacja różnymi alergenami.

Odmierzyć pipetą do dna probówek:

- **NIC** do rurki oznaczonej jako **kontrola reakcji negatywnej**.
 - Do probówki oznaczonej jako **kontrola reakcji pozytywnej** dodać 10 μl kontroli stymulacyjnej.
 - Do probówki oznaczonej jako **próbka stymulowana alergenem** dodać 10 μl alergenu lub użyć pojedynczej probówki z liofilizowanym alergenem (EXBIO).
2. Dodać 100 μl buforu stymulacyjnego do każdej probówki.
 3. Odmierzyć pipetą po 100 μl krwi pełnej z dodatkiem heparyny lub EDTA do każdej probówki i delikatnie zamieszać.

UWAGA: unikać pipetowania krwi po ściance probówki. Jeśli na boku probówki pozostanie rozmaz krwi lub kropla, może ona nie zostać zabarwiona odczynnikiem lub erytrocyty mogą nie ulec lizie, przez co wynik testu może być nieważny.

4. Umieścić probówki w łaźni wodnej na 15 minut lub w inkubatorze powietrznym na 25 minut, oba w temperaturze 37 °C.
5. Dodać po 20 µl odczynnika barwiącego do każdej probówki, delikatnie zamieszać i inkubować przez 20 minut w temperaturze 2–8°C lub na lodzie.
6. Dodać 300 µl roztworu Lysing Solution do każdej z probówek. Delikatnie wirować i inkubować probówki przez 5 minut w temperaturze pokojowej w ciemności.
7. Do każdej probówki dodać po 3–4 ml wody dejonizowanej, delikatnie zamieszać i inkubować przez 5–10 minut w temperaturze pokojowej w ciemności, aż do momentu lizy czerwonych krwinek.
8. Wirować probówki przez 5 minut z prędkością 300 g.
9. Usunąć supernatant i zawiesić osad w 0,2–0,4 ml buforu 1X PBS.
10. Natychmiast pobrać zabarwioną próbkę na cytometr przepływowy. Jeżeli barwiona próbka nie zostanie pobrana natychmiast, należy ją przechowywać w temperaturze 2–8°C w ciemnym miejscu. Próbkę barwioną należy poddać analizie w ciągu 24 godzin od otrzymania próbki.

UWAGA: wirować zabarwioną próbkę bezpośrednio przed akwizycją w cytometrze przepływowym, aby uniknąć tworzenia się agregatów.

Analiza metodą cytometrii przepływowej

Cytometr przepływowy wybrany do stosowania z urządzeniem BasoFlowEx Kit należy rutynowo kalibrować przy użyciu mikrokulek fluorescencyjnych, aby zapewnić stabilną czułość detektorów zgodnie z instrukcją producenta cytometru.

W przypadku nieprawidłowej konserwacji cytometr przepływowy może dawać fałszywe wyniki.

Patrz specyfikacje cytometru producenta dotyczące laserów i detektorów fluorescencyjnych zgodnie z charakterystyką wzbudzenia i emisji fluorochromów w rozdziale 6. Wymagany osprzęt.

Ustawić napięcia na odpowiednich detektorach fluorescencyjnych przed analizą zabarwionej próbki. Napięcie na detektorze PMT powinno być ustawione na tyle wysoko, aby jak najmniej zdarzeń wybarwionych ujemnie zakłócało kanał 0 na osi fluorescencji. Również napięcie detektora PMT nie powinno przekraczać wartości, przy których dodatnie zdarzenia są dociskane do prawej osi.

Kompensacja sygnałów fluorescencji między detektorami przed lub po akwizycji danych. Dane mogą być nieprawidłowo interpretowane, jeśli sygnały fluorescencyjne są niewłaściwie kompensowane lub jeśli bramki są ustawione niedokładnie.

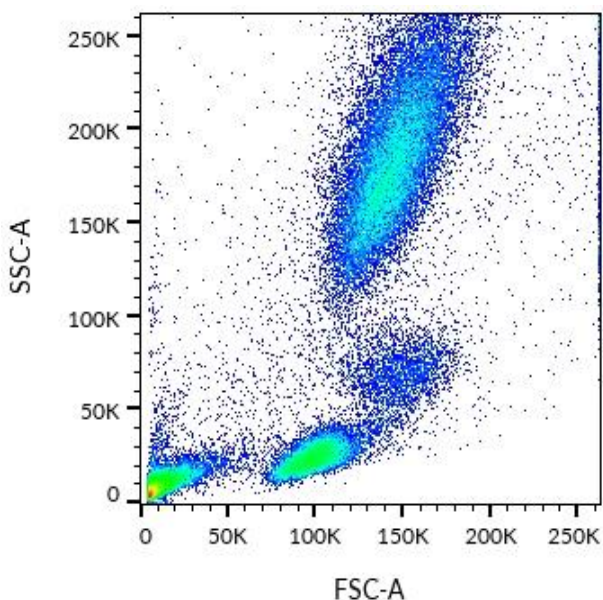
Do analizy danych pomiarowych można wykorzystać oprogramowanie cytometryczne opracowane przez producenta lub oprogramowanie dedykowane do analizy danych cytometrycznych offline (np. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Analiza próbki pacjenta

Aby przeanalizować wystarczającą liczbę bazofilów (>200), należy zebrać co najmniej 50 000–100 000 zdarzeń na próbkę. Skompensuj dane (kanały FITC i PE) przed lub po pobraniu.

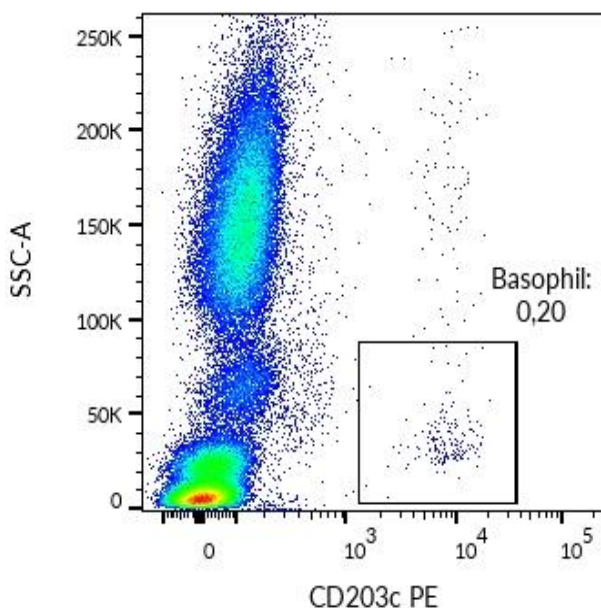
Utwórz wykres punktowy rozproszenia bocznego (SSC-A) w stosunku do rozproszenia przedniego (FSC-A), jak pokazano na rysunku 1, aby zobaczyć rozkład leukocytów na limfocyty, monocyty i granulocyty.

Rysunek 1 Populacja leukocytów (FCS-A / SSC-A)
(dane zebrane na BD FACSCanto™ II)

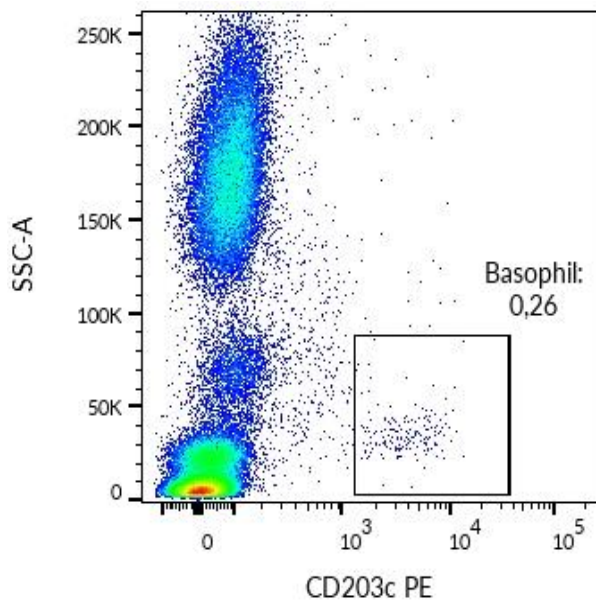


Wizualizacja nabytych zdarzeń na wykresie punktowym rozpraszania bocznego (SSC) w stosunku do intensywności fluorescencji w kanale PE (CD203c PE). Ustaw bramkę dla populacji bazofilów (CD203c^{pos}, SSC^{low}), jak pokazano na rysunku 2. Upewnij się, że zarówno uzyskane zdarzenia kontrolne pozytywne, jak i negatywne znajdują się w utworzonej bramce, jak pokazano na rysunku 2 i rysunku 3.

Rysunek 2 Określenie populacji bazofilów (CD203c^{pos} / SSC^{low}) w próbce kontroli dodatniej (dane zebrane na BD FACSCanto™ II)

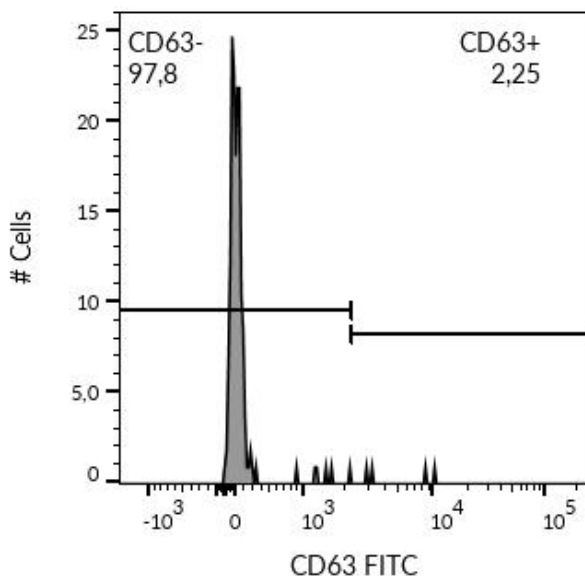


Rysunek 3 Określenie populacji bazofilów ($CD203c^{pos} / SSC^{low}$) w próbce kontroli negatywnej (dane zebrane na BD FACSCanto™ II)

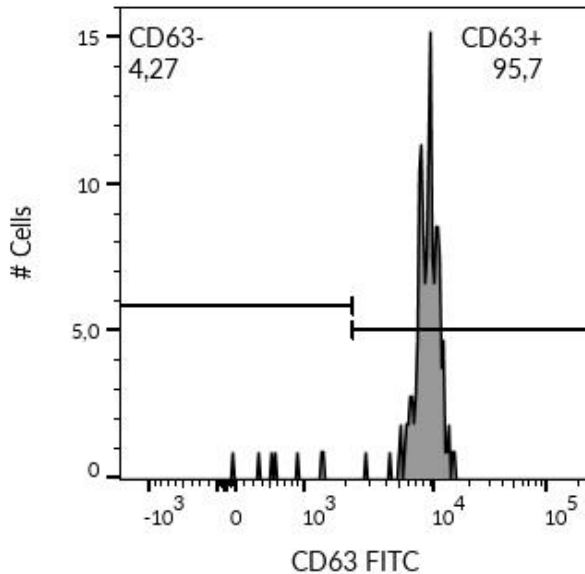


Przedstaw bramkowane bazofile jako histogramy, gdzie oś X przedstawia intensywność fluorescencji w kanale FITC (CD63 FITC) pokazanym na rysunkach 4a, b. Za pomocą reakcji kontroli negatywnej ustaw odpowiednią bramkę dla niestymulowanych bazofilów (CD63-) przy użyciu próbki kontroli negatywnej i zastosuj ją do wszystkich próbek pobranych od danego pacjenta.

Rysunek 4a Histogram bazofili kontroli ujemnej
(dane zebrane na BD FACSCanto™ II)



Rysunek 4b Histogram bazofili kontroli dodatniej
(dane zebrane na BD FACSCanto™ II)



Obliczanie i interpretacja wyników analiz

Przeanalizuj uzyskane dane przy użyciu odpowiedniego oprogramowania do analizy cytometrii przepływowej. Za pomocą reakcji kontroli ujemnej ustaw odpowiednią bramkę dla niestymulowanych bazofilów (CD63-) i zastosuj ją do wszystkich stymulowanych próbek od tego samego pacjenta. Oblicz procent aktywowanych bazofili (CD63^{bright}) w próbce kontroli dodatniej.

Jeżeli próbka kontroli dodatniej wykazuje aktywację bazofili < 10%, próbek nie można zinterpretować. Wynik należy uznać za nieważny i powtórzyć test.

11. Wydajność analityczna

Precyzja (powtarzalność i odtwarzalność)

Powtarzalność (w laboratorium, w ciągu jednego dnia i przez jednego operatora) testu określono na podstawie danych zmierzonych poprzez aktywację bazofili przy kontroli stymulacji w dziesięciu równoległych próbkach krwi z heparyną i EDTA w tych samych warunkach eksperymentalnych. Pomiary wykonano na dwóch cytometrach przepływowych (BD FACSCanto™ II i BC DxFLEX).

Tabela 4 Parametry powtarzalności dla zestawu BasoFlowEx.

Typ cytometru	Typ okazu	Średnia [%]	W laboratorium [%CV]
BD FACSCanto™ II	EDTA	89,8	2,1
	Heparyna	82,9	6,2
BC DxFLEX	EDTA	84,4	2,7
	Heparyna	80,3	4,9

Powtarzalność testu określono na podstawie danych mierzonych metodą aktywacji bazofili przy użyciu kontroli stymulacji przez czterech operatorów w pięciu równoległych próbkach krwi z heparyną i EDTA w tych samych warunkach eksperymentalnych. Pomiary wykonano na dwóch cytometrach przepływowych (BD FACSCanto™ II i BC DxFLEX). Ponadto dokładność pośrednią (międzylaboratoryjną, międzydniową) określono w dziesięciu równoległych próbkach krwi z heparyną i EDTA w tych samych warunkach eksperymentalnych, na dwóch cytometrach przepływowych (BD FACSCanto™ II i BC DxFLEX).

Tabela 5 Parametry powtarzalności zestawu BasoFlowEx.

Typ cytometru	Typ okazu	Powtarzalność CV [%]	Międzylaboratoryjne [%CV]	Międzydniowe [%CV]
BD FACSCanto™ II	EDTA	2,4	1,6	1,1
	Heparyna	3,3	1,6	4,1
BC DxFLEX	EDTA	5,7	6,5	6,5
	Heparyna	4,3	2,9	6,1

Wartości graniczne aktywowanych bazofili mierzone w 60 próbkach krwi z dodatkiem heparyny i 102 próbkach krwi z dodatkiem EDTA, badanych zgodnie ze standardowym protokołem na dwóch cytometrach przepływowych (BD FACSCanto™ II i BC DxFLEX), podano w tabeli 6. Na podstawie wyników ustalono techniczny próg odcięcia na poziomie 10% stymulowanych bazofilów. Wyniki powyżej progu 10% uważa się za dodatnią stymulację bazofilów.

Tabela 6 Wartość odcięcia aktywowanych bazofili na dwóch próbkach i dwóch platformach

Parametr	Cytometr	Krew	n	Średnia + 3SD[%]
Aktywowane bazofile kontroli negatywnej	BD FACSCanto™ II	Heparyna	60	7,2
	BC DxFLEX	Heparyna	60	7,2
	BD FACSCanto™ II	EDTA	102	7,6
	BC DxFLEX	EDTA	102	9,9

Liniowość

Liniowość metody potwierdzono na 7 seryjnych rozcieńczeniach próbki pełnej krwi stymulowanej EDTA (ED7043-2 Stimulation Control) rozcieńczonej niestymulowaną próbką krwi EDTA. Próbkę komórek barwiono zestawem BasoFlowEx w czterokrotnych powtórzeniach. Próbkę analizowano przy użyciu cytometrów przepływowch BD FACSCanto™ II i Beckman Coulter DxFLEX. Zaobserwowano, że zmierzone dane dla podzbioru bazofili były liniowe w zakresie 9,3–93,5% stymulowanych bazofili przy użyciu BD FACSCanto™ II i 9,1–83,7% stymulowanych bazofili przy użyciu Beckman Coulter DxFLEX.

12. Wydajność kliniczna

Skuteczność kliniczną zestawu BasoFlowEx oceniono, łącząc recenzowaną literaturę naukową z opublikowanymi doświadczeniami z rutynowych badań diagnostycznych opublikowanymi do września 2024 r. Choć intencje i hipotezy były różne, w ocenianych publikacjach zbadano i potwierdzono zdolność zestawu BasoFlowEx do odróżniania pacjentów z alergią od pacjentów bez alergii w obecności alergenów pokarmowych i pyłkowych, alergenów zwierząt domowych i leków ^(9, 10, 11). Zdolność tę potwierdzono również poprzez porównanie z innymi testami alergenowymi, takimi jak sIgE i SPT (test skórny punktowy), a także z historią kliniczną pacjenta i innymi dostępnymi w sprzedaży urządzeniami ⁽¹²⁾. Potwierdzono również, że bazofile można stymulować w różnych próbkach krwi, a zakres pomiarów wykonywanych za pomocą zestawu ma znaczenie w diagnostyce alergii ⁽¹¹⁾. Test aktywacji bazofilów został również opisany jako obiecujące narzędzie do monitorowania skuteczności immunoterapii oraz w procesie odczulania ^(12, 13).

13. Oczekiwane wartości

Interwał odniesienia

Wartości oczekiwane liczby aktywowanych bazofili mierzonych w kontroli dodatniej i ujemnej w 60 próbkach krwi heparynizowanej i 102 próbkach krwi EDTA, badanych zgodnie ze standardowym protokołem na dwóch cytometrach przepływowych (BD FACSCanto™ II i BC DxFLEX), podano w Tabeli 7 i 8.

Tabela 7 Wartość aktywowanych bazofili kontroli dodatniej na dwóch próbkach i dwóch platformach

Parametr	Cytometr	Krew	n	MIN[%]	MAKS[%]
Aktywowane bazofile kontroli pozytywnej	BD FACSCanto™ II	Heparyna	60	24,2	98,1
	BC DxFLEX	Heparyna	60	24,1	90,2
	BD FACSCanto™ II	EDTA	102	21,9	100
	BC DxFLEX	EDTA	102	27,0	96,7

Tabela 8 Wartość aktywowanych bazofili kontroli ujemnej na dwóch próbkach i dwóch platformach

Parametr	Cytometr	Krew	n	MIN[%]	MAKS[%]
Aktywowane bazofile kontroli negatywnej	BD FACSCanto™ II	Heparyna	60	0	6,2
	BC DxFLEX	Heparyna	60	0	6,4
	BD FACSCanto™ II	EDTA	102	0	11,5
	BC DxFLEX	EDTA	102	0	13,9

14. Ograniczenia

Nie potwierdzono skuteczności zestawu BasoFlowEx w aktywacji bazofili w próbkach pobranych przy użyciu dekstrozy cytrynianowej (ACD) jako środka przeciwzakrzepowego.

15. Bibliografia

- 1) Sturm, EM, et al. CD203c-based basophil activation test in allergy diagnosis: Characteristics and differences to CD63 upregulation. Cytometry Part B. 2010; 78B: 308–318. doi: 10.1002/cyto.b.20526.
- 2) Ebo, DG et al. In vitro allergy diagnosis: should we follow the flow? Clin Exp Allergy. 2004 Mar;34(3):332-9. doi: 10.1111/j.1365-2222.2004.01891.
- 3) Stewart, G. A. et al. Allergens pollutants and air. Allergy E-Book 2011;73.
- 4) Andersen, CJ & Vance, TM Gender Dictates the Relationship between Serum Lipids and Leukocyte Counts in the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2004. J Clin Med. 2019;8(3):365. doi:10.3390/jcm8030365.
- 5) Lecoeur, H et al. Comparative analysis of flow cytometric methods for apoptosis quantitation in murine thymocytes and human peripheral lymphocytes from controls and HIV-infected persons Evidence for interference by granulocytes and erythrocytes, J Immunol Methods. 1996;198(1):87-99. doi:10.1016/0022-1759(96)00148-2.

- 6) de Jonge, G et al. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. J Clin Lab Anal. 2018 Jun;32(5): e22396. doi: 10.1002/jcla.22396.
- 7) Haga, Y et al. Flow cytometric measurement of intracellular bilirubin in human peripheral blood mononuclear cells exposed to unconjugated bilirubin. Clin Biochem. 1992 Aug;25(4):277-83. doi: 10.1016/0009-9120(92)80033-d.
- 8) van Ierssel, SH et al. Endothelial Microparticles (EMP) for the Assessment of Endothelial Function: An In Vitro and In Vivo Study on Possible Interference of Plasma Lipids. PLoS One. 2012;7(2):e31496. doi:10.1371/journal.pone.0031496.
- 9) Gámez, C., Zafra, M. P., Sanz, V., Mazzeo, C., Ibáñez, M. D., Sastre, J., & del Pozo, V. (2015). Simulated gastrointestinal digestion reduces the allergic reactivity of shrimp extract proteins and tropomyosin. Food Chemistry, 173, 475-481.
- 10) Calzada, D., Cremades-Jimeno, L., Pedro, M. Á. D., Baos, S., Rial, M., Sastre, J., ... & Cárdena, B. (2019). Therapeutic potential of peptides from Ole e 1 in olive-pollen allergy. Scientific Reports, 9(1), 15942.
- 11) Rentzos, G et al. Use of a basophil activation test as a complementary diagnostic tool in the diagnosis of severe peanut allergy in adults. Clin Transl Allergy 2015;5: 1-14. doi: 10.1186/s13601-015-0064-9.
- 12) Depince-Berger, A et al. Basophil activation test: Implementation and standardization between systems and between instruments. Cytometry Part A 2017;91(3):261-269. doi: 10.1002/cyto.a.23078.
- 13) Ebo, DG et al. Flow-assisted quantification of in vitro activated basophils in the diagnosis of wasp venom allergy and follow-up of wasp venom immunotherapy. Cytometry. Part B, Clinical cytometry 2007; 72(3): 196-203. doi:10.1002/cyto.b.20142.

16. Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania

Podsumowanie bezpieczeństwa i działania będzie dostępne w bazie danych Eudamed pod adresem <https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>. Do tego czasu podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania jest dostępne na żądanie.

17. Używanie znaków towarowych stron trzecich

BD FACSCanto™ II i FlowJo™ są zarejestrowanymi znakami towarowymi firmy Becton, Dickinson and Company. DxFLEX jest zarejestrowanym znakiem towarowym firmy Beckman Coulter, Inc.. VenturiOne® jest zarejestrowanym znakiem towarowym firmy Applied Cytometry. Infinicyt™ jest zarejestrowanym znakiem towarowym firmy Cytognos S.L..

18. Historia zmian

Wersja 9, ED7043_IFU_v9

Zmiana klasyfikacji zagrożenia dla składnika ED7043-4 Lysing Solution.

19. Producent

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Republika Czeska

Dane kontaktowe

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

20. Upoważnieni przedstawiciele

Nie dot.

UWAGA: każdy poważny incydent, który miał miejsce w związku z urządzeniem, należy zgłosić producentowi i właściwemu organowi lokalnemu.