

TDM-Elisa APV / FOS (Amprenavir / Fos Amprenavir)

Per uso diagnostico *in-vitro*

CHE COS'È

L'amprenavir ed il Fos amprenavir (APV/Fos APV) appartengono alla classe dei peptido-mimetici inibitori della proteasi di HIV-1 (IP). Tali farmaci vengono impiegati nelle attuali terapie HAART (Highly Active Anti-Retroviral Therapy) per il controllo dell'infezione da HIV. Il profarmaco Fosamprenavir somministrato per via orale viene rapidamente e quasi completamente idrolizzato ad Amprenavir a livello della mucosa intestinale prima di raggiungere la circolazione sistemica.

Le concentrazioni plasmatiche degli inibitori della proteasi sono correlate alla risposta terapeutica e a fenomeni di tossicità.

Il kit TDM-Elisa APV/Fos APV è un test immunoenzimatico per la determinazione della concentrazione plasmatica del farmaco amprenavir (APV) all'interno dell'intervallo terapeutico di dosaggio (Rif. Linee Guida). I risultati del monitoraggio terapeutico del farmaco (TDM, Therapeutic Drug Monitoring) forniscono al clinico un dato assai importante poiché permettono di escludere i livelli alterati di farmaco come causa di possibili tossicità o di inefficacia terapeutica.

CAMPIONI ANALIZZABILI

Plasma umano

I campioni devono essere conservati a 2-8°C ed utilizzati entro 24 ore oppure vanno aliquotati e congelati (-20°, -80°C). Vanno evitati ripetuti cicli di congelamento/scongelo.

FORMATO

Micropiastra da 96 pozzetti (strip da 8 pozzetti)

INTERVALLO DI DOSAGGIO

0.4 a 5 µg/ml

CONSERVAZIONE

Il kit deve essere conservato a 2-8°.

SHELF-LIFE

9 mesi dalla data di produzione

TEMPO DI ESECUZIONE DEL TEST

1h e 30 min (esclusa la preparazione del campione)

NUMERO DI CAMPIONI

40 campioni in duplicato

CONTENUTO DEL KIT

DESCRIZIONE COMPONENTI	QUANTITÀ
Micropiastra (96 pozzetti)	12 x 8 pozzetti
Antisiero APV	1x 12ml
Enzima APV	1x 10ml
Calibratori Amprenavir / Curva Standard	7 x 150 µl
TMB 10X	1x 3ml
Diluyente del campione APV	1 x 50ml
Soluzione di sviluppo	1x 30ml
Soluzione di lavaggio 10X	1x 100ml
Soluzione di arresto	1x 7ml

ATTREZZATURA NECESSARIA

Letto per micropiastra con filtri a 450 e 620 nm

Lavatore per micropiastra.

Pipette (P20 e P1000) e Pipetta multicanale da 8 puntali (volumi tra 50 e 300µl)

Microcentrifuga per provette di tipo Eppendorf da 1.5 ml

PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il kit TDM-Elisa APV/Fos APV è un test immunoenzimatico quantitativo competitivo

Il kit TDM-Elisa APV/ Fos APV è basato sulla competizione tra il farmaco nel plasma ed il farmaco coniugato con l'enzima rivelatore; essi competono per il legame con il medesimo anticorpo policlonale specifico per il farmaco. La fase solida specie-specifica cattura l'anticorpo specifico. Il campione ed i reagenti in eccesso vengono allontanati tramite lavaggio. Il rilevamento del coniugato legato alla fase solida viene effettuato con l'aggiunta di una soluzione cromogena la cui assorbanza viene letta tramite un colorimetro per micropiastre. Il valore di assorbanza è inversamente proporzionale alla concentrazione del farmaco nel campione.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Miscelare bene i campioni usando un agitatore Vortex per 10-15sec.

Diluire i campioni di plasma 1:100 con il Diluente del campione. Miscelare vortexando per 10-15sec

Per pazienti a concentrazione superiore ai 5 µg (fino a 10 µg), è possibile ricorrere ad una diluizione finale 1:200; in questo caso per ottenere il valore di concentrazione finale i valori vanno moltiplicati per il fattore di diluizione 2.

PROCEDURA RAPIDA DEL TEST

Trasferire 20 µl dei Calibratori e dei campioni precedentemente preparati nei relativi pozzetti.

Dispensare prima 80 µl di Enzima-APV e poi 100 µl di Antisiero APV in tutti i pozzetti, eccetto che nei bianchi.

Incubare per 60 min a RT.

Lavare la micropiastra 5 volte riempiendo completamente tutti i pozzetti (circa 350µl) con la soluzione di lavaggio diluita.

Dispensare 200µl della soluzione cromogena precedentemente diluita in ciascun pozzetto utilizzando la pipetta multicanale.

Incubare per 30 min a RT al riparo dalla luce.

Aggiungere 50 µl di Soluzione di arresto in ciascun pozzetto.

Leggere i valori di assorbanza a 450 nm con il lettore per micropiastra

CALCOLO DEI RISULTATI

Se il calcolo viene effettuato con apposito software, utilizzare preferibilmente un metodo 4-Parametri Logit-Log

Se si effettua il calcolo manualmente, calcolare la media delle assorbanze dei calibratori e dei campioni e sottrarre a tutte il valore medio dei pozzetti dei bianchi. Calcolare per ogni pozzetto il valore B/B₀ secondo la seguente formula:

$$\frac{\text{Media Assorbanze dei calibr. o Campione} \times 100}{\text{Media dell'assorbanza del calibr. 0}}$$

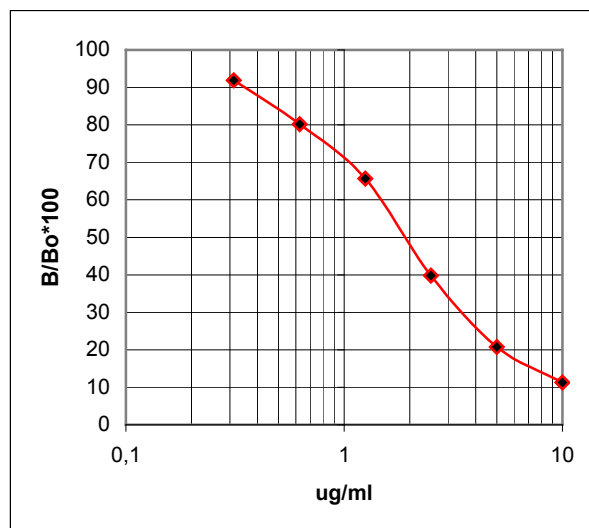
Estrapolare i valori sulla curva standard.

FABBRICANTE

BioStrands S.r.l.
Via del Follatoio 12
34148 Trieste (Italia)
Tel. +39.040.8992.451
Fax: +39.040.8992.452



ESEMPIO DI CURVA STANDARD APV



RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents, Oct 2006
- An enzyme immunoassay (TDM ELISA) compared to high performance liquid chromatography (HPLC) to determine amprenavir plasma concentrations in HIV-infected patients. Seminari E., Donadel E., Gentilini G., Soldarini A., Bastiani E., Galli L., Rinaldi S., Dorigatti F., Castagna A., Lazzarin A., IV Forum SIVIM Gennaio 2006 "Infezione da HIV: Diagnostica avanzata e terapie antiretrovirali innovative" - Milano
- To determine Fos-Amprenavi plasma concentrations in HIV-infected patients: Elisa kit compared to high performance liquid chromatography (HPLC) Gentilini g., Seminari E., Soldatini A., Donadel E., Bastiani E., Rinaldi S., Castagna A., Lazzarin A., Dorigatti F., 7th International congress on Drug Therapy in HIV Infection - Glasgow Nov 2004
- Evaluation of an Elisa Method for measuring Amprenavir in plasma. Montagna M., Bastiani E., Cusato M., Benedetti F., Rinaldi S., Donadel E., Berti F., Meroni V., Ragazzi M., Varsavia Settembre 2003.

codice	Descrizione	Formato
1678	TDM-Elisa APV/Fos APV	96 pozzetti

DISTRIBUTORE PER L'ITALIA

Alifax S.p.a.
Via Petrarca 2/1
35020 Isola dell'Abbà - Padova
Tel. +39.049.8044911
Fax: +39.049.5855434

Rev. 0,030407