



TDM-Elisa LPV (Lopinavir)

Per uso diagnostico *in-vitro*

CHE COS'È

Il Lopinavir (LPV) appartiene alla classe dei peptidomimetici inibitori della proteasi di HIV-1 (IP). Tale farmaco viene impiegato in associazione al ritonavir (RTV) nelle attuali terapie HAART (Highly Active Anti-Retroviral Therapy) per il controllo dell'infezione da HIV.

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

Il kit TDM-Elisa LPV è un test immunoenzimatico per la determinazione della concentrazione plasmatica del farmaco lopinavir (LPV) 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 (a -20°; - 80°C). Vanno evitati ripetuti cicli di congelamento/scongelo.

FORMATO

Micropiastra da 96 pozzetti (strip da 8 pozzetti)

INTERVALLO DI DOSAGGIO

1 a 8 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 ANALIZZABILI

40 campioni in duplicato

CONTENUTO DEL KIT

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

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Metanolo

ATTREZZATURA NECESSARIA

Lettoce 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 Eppendorf da 1.5 ml

PRINCIPIO DEL SAGGIO

Il kit TDM-Elisa LPV è un test immunoenzimatico quantitativo competitivo

Il kit TDM-Elisa LPV 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 lettore 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. Prelevare 100 µl di plasma e diluirli con 300 µl di Metanolo.

Mescolare con il Vortex per 10 –15sec.

Centrifugare per 10min a 10,000 x g.

Prelevare 100 µl di surnatante limpido e diluirlo con 150 µl di acqua distillata. Vortexare per 10-15sec. Prelevare 100 µl della precedente diluizione ed addizionarli a 150 µl di una soluzione di metanolo al 30%. Miscelare vortexando per 10-15sec

PROCEDURA RAPIDA DEL TEST

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

Dispensare prima 80 µl di Enzima-LPV e poi 100 µl di Antisiero-LPV 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

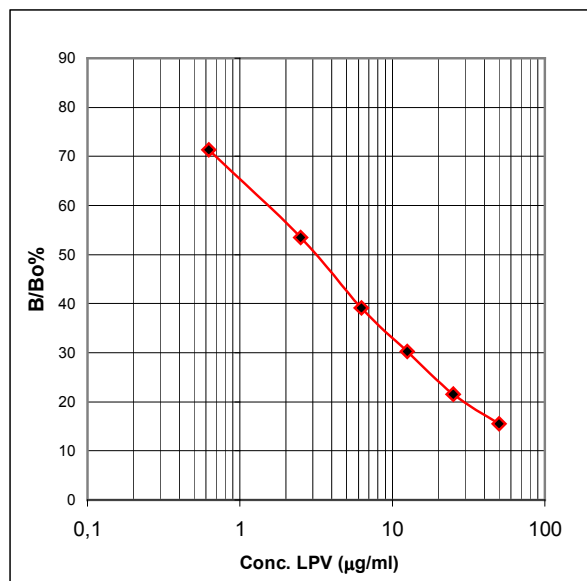
Se il calcolo viene effettuato con apposito software, utilizzare preferibilmente un metodo 4-Parametri Logit-Log

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/B_0 secondo la seguente formula:

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

Estrapolare i valori sulla curva standard.

ESEMPIO DI CURVA STANDARD



RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents, Oct 2006
- A new ELISA method for the determination of Lopinavir e Ritonavir in human plasma
Zanone Poma B, Menzaghi B, Broggin V, Mologni D, Bastiani E, Rinaldi S, Galli M¹, Riva A, Abstract XVI International AIDS conference – Toronto Canada, Agosto 2006
- An enzyme immunoassay for the quantification of plasma and intracellular lopinavir in HIV-infected patients. Azoulay S, Nevers MC, Creminon C, Heripret L, Garraffo R, Durant J, Dellamonica P, Grassi J, Guedj R, Duval D
J Immunol Methods. 2004 Dic.; 295(1-2):37-48

CODICE	DESCRIZIONE	FORMATO
2678	TDM-Elisa LPV	96 pozzetti

FABBRICANTE

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



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

