

TDM-Elisa NFV (Nelfinavir)

Per uso diagnostico *in-vitro*

CHE COS'È

Il nelfinavir (NFV) appartiene alla classe dei peptidomimetici inibitori della proteasi di HIV-1 (IP). Tale farmaco viene impiegato 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 NFV è un test immunoenzimatico per la determinazione della concentrazione plasmatica del farmaco NFV e del suo maggiore metabolita farmacologicamente attivo M8 (hydroxy-t-butylamide); viene utilizzato per la gestione della terapia in pazienti infetti da HIV-1 e per il monitoraggio della aderenza terapeutica.

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

0.8 a 3 µg/ml

CONSERVAZIONE

Il kit deve essere conservato a 2-8°

SHELF-LIFE

6 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 NFV	1x 12ml
Enzima NFV	1x 10ml
Calibratori NFV / Curva Standard	7 x 300 µl
TMB 10X	1x 3ml
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 NFV è un test immunoenzimatico quantitativo competitivo

Il kit TDM-Elisa NFV è basato sulla competizione tra il farmaco/metabolita M8 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 (pozzetti su una micropiastra) 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. L'attività enzimatica produce una soluzione colorata 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. 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. Miscelare bene, usando un agitatore Vortex per 10-15". Prelevare 10 µl della precedente diluizione ed addizionarli a 990µl di una soluzione di Metanolo al 30%.

PROCEDURA RAPIDA DEL TEST

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

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

Incubare per 60 min a RT.

Lavare la micropiastre 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 micropiastre

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:

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

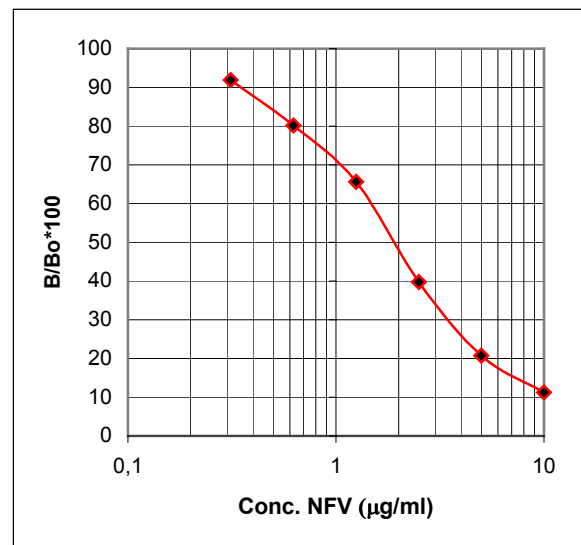
Estrapolare i valori sulla curva standard

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



RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents, Oct 2006
- Valutazione di un test ELISA per il monitoraggio terapeutico del nelfinavir in pazienti HIV positivi F. Genco, V. Meroni, A. Uglietti, E. Donadel, S. Rinaldi, E. Bastiani, R. Maserati Abstract AMCLI 2006

Codice	Descrizione	Formato
3678	TDM-Elisa NFV (Nelfinavir)	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