

## TDM - Elisa RTV booster (Ritonavir booster)

### Per uso diagnostico *in-vitro*

#### CHE COS'È

Il ritonavir (RTV) appartiene alla classe dei peptidomimetici inibitori della proteasi di HIV-1 (IP) che vengono impiegati nelle attuali terapie HAART (Highly Active Anti-Retroviral Therapy) per il controllo dell'infezione da HIV.

Il ritonavir viene somministrato a basso dosaggio (booster) con agli altri inibitori della proteasi poiché si è osservato che le interazioni tra il RTV e gli altri IP migliorano la farmaco-cinetica di quest'ultimi. Questa combinazione permette di ridurre la dose e la frequenza di somministrazione del secondo IP, aumentando in tal modo la tolleranza e l'aderenza alla terapia.

Il kit TDM-Elisa RTV booster è un test immunoenzimatico per la determinazione della concentrazione plasmatica del RTV all'interno dell'intervallo terapeutico di dosaggio quando questo viene utilizzato a basse dosi in associazione agli altri IP. 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

0.09 a 0.9 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 RTV	1x 12ml
Enzima RTV	1x 10ml
Calibratori Ritonavir / 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

#### MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Metanolo

#### ATTREZZATURA NECESSARIA

Lettore 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 RTV-booster è un test immunoenzimatico quantitativo competitivo

Il kit TDM-Elisa RTV-booster 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. Tale 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 MetOH 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-RTV e poi 100 µl di Antisiero-RTV 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 micropiastre

### CALCOLO DEI RISULTATI

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

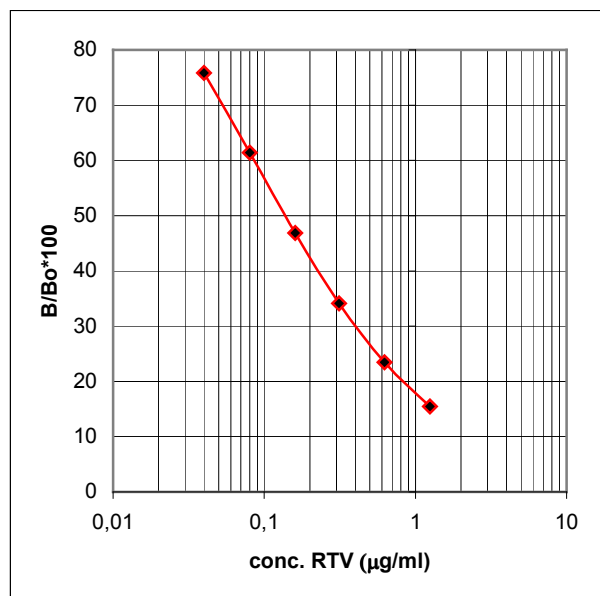
Se si effettua il calcolo manualmente, calcolare la media delle assorbanze dei calibratori e dei campioni e sottrarre a tutte il valore medio dei pozzetti dei bianchi.

Calcolare per ogni pozzetto il valore  $B/B_0$  secondo la seguente formula:

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

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 M, Riva A, Abstract XVI International AIDS conference – Toronto Canada, August 2006

CODICE	DESCRIZIONE	FORMATO
7678	TDM - Elisa RTV booster	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; 300307