








# TECHNOZYM<sup>®</sup> PAI-1 Antigen ELISA



REF	TC12075	TECHNOZYM <sup>®</sup> PAI-1 Antigen ELISA	
REF	TC12077	TECHNOZYM <sup>®</sup> PAI-1 Antigen Calibrator Set	5 x 0,5 ml
REF	TC12079	TECHNOZYM <sup>®</sup> PAI-1 Antigen Control Set	2 x 0,5 ml

## Symbols key / Symbolschlüssel / interpretazione dei simboli / explicación de símbolos / explicação dos símbolos / clé des symboles / Symbolnyckel / symbolforklaring / Tegnforklaring / Κλειδί συμβόλων / Използвани символи / символы / Ključova slova / Značenje simbola

	Manufacturer / Hersteller / fabbricante / fabricante / fabricant / fabricant / Tilverkaren / Fabrikanten / Produzent / Κατασκευαστής / Производител / Производител / výrobce / Proizvođač		Expiry date / Verfallsdatum / data di scadenza / fecha de caducidad / data de validade / date d'expiration / utgångsdatum / udløbsdato / Utløpsdato / Ημερομηνία λήξης / срок на годност / datum expirace / срок годности / datum expirace / Rok trajanja
	Storage temperature / Lagertemperatur / temperatura di conservazione / temperatura de conservación / temperatura de conservação / température de stockage / lagringstemperatur / opbevaringstemperatur / Oppbevaringstemperatur / Θερμοκρασία αποθήκευσης / съхранение на / teplota skladování / температура хранения / teplota skladování / Temperatura lagerovanja		Consult instructions for use / Gebrauchsanweisung beachten / consultare le istruzioni per l'uso / consulte las instrucciones de uso / consultar o manual de instruções / instruction d'utilisation / se användarinstruktioner / følg brugsvejledning / Følg bruksanvisningen / συμβουλευθείτε τις οδηγίες για τη χρήση / прочетете инструкцията за работа / pořebe řidit se instrukcemi / перед использованием читайте инструкцию / sledujte návod k použití / Pročitaj upustvo pre upotrebe
	CE-mark / CE-Kennzeichnung / marchio CE / marca de CE / Simbolo da CE / marquage CE / CE-märkning / CE-mærket / CE-merke / CE-σημάδι / CE марка / CE-označeni / маркировка CE / značka CE / CE-marka		Determinations / Bestimmungen / determinazioni / determinaciones / determinações / déterminations / bestämningar / bestemmelse / Bestemmelse / προσδιορισμοί / брой тестове / stanovení / определний / počet stanovení / Definicija
<b>AQUA</b>	Distilled water / destilliertes Wasser / acqua distillata / agua destilada / água destilada / eau distillée / destillerat vatten / destilleret vand / Destillert vann / απεσταγμένο νερό / destiliprana voda / destilovaná voda / дистиллированная вода / destilovaná voda / Destilisana Voda	<b>LOT</b>	Lot / Charge / lotto / lote / lote / lot / sats / serie / Parti / партиа / партида номер / šarže / lot / šarže / Serija
<b>BUF</b>	Reaction buffer / Reaktionspuffer / tampone di reazione / tampón de reacció / Tampão de reação / tampon de réaction / Reaktionsbuffert / Reaktionsbuffer / Reaktionsbuffer / διάλυμα αντίδρασης / Реакционен буфер / Рабочий буферный раствор / Reakčni pufr / Reakcioni pufer	<b>MTP</b>	Microtiter plate / Mikrotiterplatte / placa microtiter / microplaca / microplaca / microplaques sensibilisées / Mikrotiterplatta / Mikrotiterplade / mikrotiterplate / πλάκα μικροτιτλοδότησης / Микротитърна плоча / Микропланшет / Mikrotitrační destička / Mikrotitracione ploče
<b>CAL</b>	Calibrator / Kalibrator / Calibratore / calibrador / calibrador / calibreur / Kalibrator / Kalibrator / Kalibrator / Βαθμονομητής / Калибратор / калибратор / kalibrátor / Kalibrator	<b>REF</b>	Catalogue number / Katalognummer / numero di catalogo / número de catálogo / número de referência / réf. de catalogue / katalognummer / Katalognummer / αριθμός κατάλογων / καταλογен номер / katalogové číslo / каталожный номер / katalogové číslo / Kataloški broj
<b>CONJ</b>	Conjugate / Konjugat / Coniugato / conjugado / conjugado / conjugaté / Konjugerad / Konjugat / Konjugat / συνδεδετικό / Конюгат / Конъюгат / Konjugát / Konjugat	<b>RTU</b>	Ready to use / gebrauchsfertig / pronto all'uso / listo para usar / pronto a usar / prêt à l'emploi / færdig att användas / færdig til brug / klar til bruk / έτοιμο προς χρήση / Готов за употреба / готов к использованию / k přímému použití / Razrediti ili rastvoriti
<b>CONT</b>	Control / Kontrolle / controllo / control / control / contrôle / Kontroll / Kontroll / Kontroll / διάλυμα ελέγχου / Контрол / Контрольный образец / Kontrola / Kontrola	<b>STOP</b>	Stop solution / Stopplösung / Soluzione di arresto / solución de parada / solução de paragem / solution d'arrêt / Stoppløsning / Stop-opløsning / Stoppløsning / διάλυμα παύσης / Стоп разтвор / Стоп-раствор / Zastavovací roztok / Stop solucija
<b>DIL</b>	Dilute or dissolve in / verdünnen oder lösen in / diluire o dissolvere in / diluir o dissolver / diluir ou dissolver em / diluer ou dissoudre dans / späd eller upplös i / fortyndes eller opløses i / Fortyndes eller opløses i / αραιωση ή διάλυση σε / растворите или разредете с / zředit anebo rozpustit v / разбавить или растворить в / nafedte nebo rozpustit v / razrediti ili rastvoriti u	<b>SUB</b>	Substrate / Substrat / substrato / substrato / substrato / substrat / Substrat / Substrat / Substrat / υπόστρωμα / Субстрат / Субстрат / Substrát / Substrat
<b>INC</b>	Incubation buffer / Inkubationspuffer / tampone di incubazione / tampón de incubación / tampão de incubação / tampon d'incubation / Inkubationsbuffert/ Inkubationsbuffer/ Vaskebufferkonsentrat / διάλυμα επώασης / Инкубационен буфер / Буфер для инкубации / Inkubační pufr / Inkubacioni pufer	<b>WASH</b>	Washing solution concentrate / Waschlösungskonzentrat / concentrado de solución de lavado / solución de lavado concentrada / tampão de lavagem concentrado / Tampon de lavage concentré / Vattenlösningsskoncentrat / Vaskeoppløsningsskoncentrat / vaskeløsningsskoncentrat / συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης / Концентриран миеш разтвор / Концентрат промывочного раствора / Koncentrát promývacieho roztoku / Koncetrat solucije za ispiranje
<b>IVD</b>	In vitro diagnostic use / in vitro Diagnostikum / diagnostico in vitro / diagnóstico en vitro / diagnóstico in vitro / diagnostic in vitro / för in vitro diagnostik / in vitro diagnostik / in vitro diagnostisk bruk / рηση διαγνωστικής εντόβ σωλήνα / за ин vitro диагностика / pro in vitro diagnostiku / использовать для диагностики in vitro / diagnostický prostředek in vitro / in vitro dijagnostika		



## PRODUCT DESCRIPTION

### INTENDED USE

The TECHNOZYM® PAI-1-antigen-ELISA can be used to determine PAI-1 antigen levels in patients with thrombotic disorders (deep vein thrombosis, myocardial infarction, stroke), malignancies or septicæmia.

### COMPOSITION

- ELISA test strips (12), with 8 wells each, coated anti PAI-1 monoclonal antibody; the drying agent is supplied in an aluminium bag.
- Washing buffer concentrate (PBS; pH 7.3); containing detergent; 0.01% merthiolate; 1 bottle, 80 mL.
- Incubation buffer (PBS; pH 7.3); contains stabiliser protein; 0.05% proclin and dye, 1 bottle, 90 mL, ready for use.
- Calibrators (Standards) numbered; lyophilised; 1 bottle each. **Concentrations are lot-dependent; consult label on the vial.**
- Control plasmas "low level" and "high level" for checking purposes lyophilised; 1 bottle each. **Concentrations are lot-dependent; consult the label on the vial.**
- Conjugate monoclonal Anti-PAI-1-POX; dyed blue; 1 bottle, 0.3 mL.
- Chromogen TMB (tetramethylbenzidine); 1 bottle, 12 mL; ready for use.
- Stopping solution sulphuric acid 0.45 mol/L; 1 bottle 12 mL; ready for use.
- Adhesive film: for ELISA test strips (2).

### MATERIAL REQUIRED (but not supplied with the kit)

- Distilled water
- Test tubes for diluting standard and samples
- Measuring cylinder (1000 mL)
- Precision pipettes (10, 100 and 1000 µL)
- Variable pipette (1000 µL)
- Multichannel and/or dispensing pipettes (100 and 200 µL)
- ELISA washer or multichannel pipette
- ELISA reader with 450 nm filter, with a 620 nm reference filter if available.
- Incubator (+37°C)

### WARNING AND PRECAUTIONS

- All human blood or plasma products as well as samples must be considered as potentially infectious. They have to be handled with appropriate care and in strict observance of safety regulations. The rules pertaining to disposal are the same as applied to disposing hospital waste.
- Calibrators and control plasmas made from human blood and any individual plasma involved in the procedure is HBs Ag, HIV 1/2 Ab and HCV-Ab-negative (see labels on kit and/or bottles).
- Stopping solution (sulphuric acid) may irritate the skin. Should acid get into your eyes, wash out immediately with water and consult a doctor.
- The reagents sometimes contain preserving agents (merthiolate). Beware of swallowing! Avoid contact with skin or mucous membranes

### STABILITY AND STORAGE

The expiry date printed on the labels applies to storage of the unopened bottles at +2...8°C.

Stability after reconstitution/opening:

Material/Reagent	State	Storage	Stability
Calibrators, control plasmas	after reconstitution	-20°C	6 months
ELISA test strip	after opening	+2...8°C with adhesive film in plastic bag with drying agent	expiry date
Washing buffer concentrate	after opening	+2...8°C	6 months
Washing buffer	1+11.5 dilution of concentrate	+2...8°C	3 weeks
Incubation buffer	after opening	+2...8°C	2 months
Conjugate	after opening	+2...8°C	6 months
	working solution	room temperature +18...25°C	60 minutes
Chromogen TMB	after opening	+2...8°C	expiry date

## TEST PROCEDURE

### PREPARATION OF SAMPLES

Sample material: Plasma.

It is highly recommended to use commercially available collecting tubes which contain platelet stabilizing agents e.g. CTAD. 90% of PAI-1 antigen is contained in the platelets so it is essential to ensure during sample collection that the platelets are not damaged which would result in elevated plasma levels. Citrated or EDTA plasmas can be used. Centrifuge for 15 minutes at a minimum of 2500 g (DIN 58905). The plasma sample may be stored for 3 hours at room temperature; otherwise the sample ought to be frozen immediately after centrifugation at -20°C or below. Plasmas are stable for 6 months at -20°C.

Serum samples should not be used as they show high PAI-1 levels which are related to the platelet PAI-1 content. Cell supernatants and tumour extracts can be used, but this ELISA test has been optimized for plasma samples, therefore other dilution factors would have to be used accordingly.

### PREPARATION OF REAGENTS

- Before starting the test, all the required components are to be brought to room temperature.
- Preparing the washing buffer: Dilute 1 part by volume washing buffer concentrate with 11.5 parts by volume distilled water (1+11.5). Mix well! (Diluted washing buffer concentrate = washing buffer). There may be crystalline precipitations which will dissolve at 37°C within 10 minutes.
- Label/number strips with a water resistant pen in case the strips accidentally fall out of the frame during testing.
- Reconstituting calibrators and control plasmas: Calibrators and control plasmas are reconstituted with 500 µl distilled water and mixed for 10 seconds after a reconstitution time of 15 minutes (vortex mixer). Reconstituted components are clear to slightly turbid.
- Preparing the conjugate working solution (1+50): Dilute 1 part by volume conjugate with 50 parts by volume incubation buffer.

**For 8 test wells: Mix 20 µl conjugate with 1000 µL incubation buffer**

## PERFORMANCE OF THE TEST

SAMPLE INCUBATION (reference 1,2)	Calibrators, control plasmas and samples into test wells, Add incubation buffer to all wells cover test strips with film	25 µL 75 µL
		incubate at +37°C
CONJUGATE REACTION (reference 1,2)	empty wells thoroughly and pipette conjugate working solution into wells, cover test strip with film	100 µL
	incubate at +37°C	60 minutes
WASHING ** (reference 1,3,4)	washing buffer	3 x 200 µL
SUBSTRATE REACTION (reference 1,2)	pipette substrate solution into test wells, cover test strip with film	100 µL
	incubate at room temperature (+18...25°C)	10 minutes
STOPPING (reference 1,2)	pipette stopping solution into wells	100 µL
MEASURING (reference 5)	ELISA-Reader, 450 nm	shake 10 sec., measure within 10 minutes

\*\*In use of an ELISA vending machine or automatic ELISA Washers wash please 6x.

### References

- Reagents of different lots must not be combined
- Precision and performance, among others, essentially depend on the following factors:
  - Thorough mixing of all substances used for dilution
  - Test calibrators, controls and samples in duplicates.
  - Incubation to be done at correct temperatures
  - Strict observance of the order of pipetting and of the time element as indicated:
  - The time for sample incubation, conjugate and substrate reaction as indicated starts after pipetting the last sample. Incubation times should not vary by more than ±10%.
  - During sample incubation and conjugate reaction, the time for pipetting the diluted calibrators/samples/control plasmas and/or conjugate solutions must not exceed 60 seconds per ELISA test strip (8 wells).
  - During substrate reaction and at stopping, the time needed for pipetting the substrate and/or the stopping solution must not exceed 10 seconds per ELISA test strip. Short pipetting times may be secured by using multichannel- and dispensing pipettes.

**3. After the last washing, wells must be aspirated thoroughly, turned upside down and positioned on a blotting paper; by gentle tapping, the last remnants must be removed.**

- Measuring the difference in wave lengths at 450 and 620 nm or at 450 and 690 nm, the precision of the test is increased.

### LIMITATION OF THE TEST

Samples which fall higher than the top calibrator standard must be retested at a higher dilution as a hook dose response occurs above 130 ng/mL.

## ANALYSIS RESULTS

### CALCULATION OF THE RESULTS

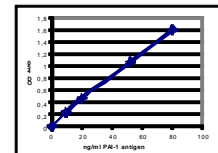
Setting up a reference curve:

X axis: Concentration PAI-1 antigen ng/ml

Y axis: Extinction

Graph plot is linear-linear.

Example of standard curve:



### Assessment of reference curve

- The extinction coefficient of the highest calibrator should be between 1.0 and 2.5.
- The validity of the test may be checked on the basis of the calculated control values.

### Measuring concentration of samples

- Read off the concentration from the reference curve.
- If there are samples with extinction coefficients higher than that of the highest point on the curve, they have to be prediluted with incubation buffer (1+1). The measured concentration then has to be multiplied with the dilution factor 2.

### REFERENCE RANGE

Normal range for PAI-1 antigen is between 7 – 43 ng/mL (n = 32 citrated plasmas)

It is recommended that individual laboratories establish their own normal range. PAI-1 antigen levels above 100 ng/mL may indicate reduced fibrinolytic capacity and thus increased thrombotic tendency. PAI-1 is an acute phase protein and its plasma concentration increases in conditions where increased Interleukin I levels are observed, e.g. infections, some malignancies and during the postoperative period. Elevated PAI-1 levels are also associated with myocardial infarction and coronary artery disease. This assay measures free, complexed and latent PAI-1 and is not affected by other plasminogen activator inhibitors.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance data are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

### PRECISION

Reproducibility was determined with different samples (in series and day to day). The following results were obtained.

Sample	Intra assay variation		Inter assay variation	
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
N	12	12	6	6
Mean (ng/mL)	42.70	7.63	49.76	7.22
SD (ng/mL)	1.01	0.41	2.41	0.54
CV (%)	2.4	5.4	4.8	7.5

### ASSAY RANGE

4 – 100 ng/mL

### DETECTION LIMIT

0.5 ng/mL

### STANDARDIZATION

The calibration material used is the WHO International standard for Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1).

## LITERATURE

Binder BR, Geiger M. Plasminogen activator inhibitor: Biological effects. In: New Trends in Haemostasis, Coagulation Proteins, Endothelium and Tissue Factors, edited by Hasenberger, J Heene, D.L., Stehle, G., Scheitler, G. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag Berlin, 1990:221-231.

## PRODUKTBECHREIBUNG

### ANWENDUNG

Der TECHNOZYM® PAI-1-Antigen-ELISA wird zur quantitativen Bestimmung der PAI-1 Antigenmenge bei Patienten mit thrombotischen Beschwerden (tiefe Beinvenenthrombose, Myokardinfarkt, Schlaganfall), bösartigen Tumoren oder Sepsis verwendet.

### ZUSAMMENSETZUNG

- ELISA-Teststreifen (12); mit jeweils 8 Testvertiefungen; beschichtet mit anti PAI-1 monoklonalem Antikörper; mit Trockenmittel im Aluminiumbeutel verpackt.
- Waschpufferkonzentrat (PBS; pH 7,3); detergens-haltig; 0,01% Merthiolat; 1 Flasche; 80 mL.
- Inkubationspuffer: (PBS; pH 7,3); enthält Stabilisatorprotein und Farbstoff; 0,05% Proclin; 1 Flasche; 90 mL; gebrauchsfertig
- Kalibratoren (Standards): Nummeriert; lyophilisiert; jeweils eine Flasche. **Die chargenabhängigen Konzentrationen entnehmen Sie bitte den Flaschenetiketten!**
- Kontrollplasma "high level" und "low level": zur Richtigkeitskontrolle; lyophilisiert; jeweils eine Flasche. **Die chargenabhängigen Konzentrationen entnehmen Sie bitte den Flaschenetiketten!**
- Konjugat: Monoklonaler Anti-PAI-POX; blaufärbt; 1 Flasche; 0,3 mL
- Chromogenes Substrat: TMB (Tetramethylbenzidin) 1 Flasche, 12 mL, gebrauchsfertig
- Stopplösung: Schwefelsäure 0,45 mol/L; 1 Flasche; 12 mL, gebrauchsfertig
- Ablebefolien: für ELISA-Teststreifen, 2 Stück

### BENÖTIGTES MATERIAL (nicht im Kit enthalten)

- Aqua dest
- Röhrchen zur Verdünnung der Standards und Proben
- Messzylinder (1000 mL)
- Präzisionspipetten (10, 100 und 1000 µL)
- Variable Pipette (1000 µL)
- Mehrkanal- bzw. Dispensierpipetten (100 und 200 µL)
- ELISA-Waschgerät oder Mehrkanalpipette
- ELISA-Reader mit 450 nm Filter (und 620 nm Referenzfilter falls verfügbar)
- Inkubator (+37°C)

### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle humanen Blut- bzw. Plasmaprodukte und Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden. Sie sind mit der notwendigen Sorgfalt und entsprechend den Sicherheitsvorschriften zu behandeln und wie Krankenhausmüll zu entsorgen.
- Die Kalibratoren und Kontrollen, hergestellt aus humanem Blut, und jedes hierzu verwendete Einzelplasma ist Hbs Ag, HIV 1/2 Ak und HCV-Ak negativ (siehe Außen- bzw. Flaschenetikett).
- Stopplösung (Schwefelsäure) kann zu Reizungen der Haut führen. Sollte Säure in die Augen gelangen, sofort mit viel Wasser auswaschen und einen Arzt aufsuchen!
- Die Reagenzien enthalten teilweise Konservierungsmittel (Merthiolat). Nicht schlucken! Haut- oder Schleimhautkontakt vermeiden!

### LAGERUNG UND STABILITÄT

Die Reagenzien sind ungeöffnet bei +2...8°C zu lagern und bis zu dem auf den Etiketten angegebenen Datum verwendbar.

Stabilität nach Rekonstitution/nach Öffnen:

Material/Reagenz	Zustand	Lagerung	Stabilität
Kalibratoren, Kontrollplasma	nach Rekonstitution	-20 °C	6 Monate
ELISA-Teststreifen	nach Öffnen	+2...8°C mit Ablebefolie in Alubeutel mit Trockenmittel	Verfallsdatum
Waschpufferkonzentrat	nach Öffnen	+2...8°C	6 Monate
Waschpuffer	1+11,5 Verdünnung des Konzentrats	+2...8°C	3 Wochen
Inkubationspuffer	nach Öffnen	+2...8°C	2 Monate
Konjugat	nach Öffnen	+2...8°C	6 Monate
	Gebrauchslösung	Raumtemperatur +18...25°C	60 Minuten
Chromogenes Substrat	nach Öffnen	+2...8°C	Verfallsdatum

### TESTDURCHFÜHRUNG

#### VORBEREITUNG DER PROBEN

Probenmaterial: Plasma  
 Es wird ausdrücklich empfohlen handelsübliche Blutentnahmeröhrchen zu verwenden, die Thrombozyten Stabilisatoren enthalten, z. B. CTAD (Greiner). 90% des PAI-Antigens sind in Thrombozyten enthalten. Daher ist es absolut notwendig sicherzustellen, dass während der Probengewinnung kein Zerfall der Thrombozyten stattfinden kann, der zu künstlich erhöhten Plasmapkonzentrationen des PAI führen würde.  
 Es können Citrat- oder EDTA- Plasmen verwendet werden. Zur Plasmagewinnung die Proben 15 min bei mindestens 2500 g (DIN 58905) zentrifugieren. Plasmaproben können 3 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden; anderenfalls sollten die Proben sofort nach der Zentrifugation eingefroren werden (-20°C oder tiefer). Haltbarkeit bei -20°C: 6 Monate.  
 Serum Proben sollten nicht verwendet werden, da sie sehr hohe PAI Konzentrationen aufweisen, die aus den Thrombozyten stammen. Zellkulturüberstände und Tumorextrakte können zwar verwendet, die geeigneten Verdünnungen müssen allerdings empirisch ermittelt werden, da dieser ELISA nur für Plasmaproben optimiert ist.

#### VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Vor Testbeginn alle benötigten Testkomponenten auf Raumtemperatur bringen.
- Herstellen des Waschpuffers: 1 Volumenteil Waschpufferkonzentrat mit 11,5 Volumenteilen Aqua dest. verdünnen (1+11,5). Gut mischen! (Verdünntes Waschpufferkonzentrat = Waschpuffer). Eventuelle kristalline Niederschläge gehen bei 37°C innerhalb von 10 min in Lösung.
- Teststreifen mit wasserfestem Stift markieren, falls sie während des Testes versehentlich aus der Halterung fallen sollten.
- Rekonstituieren der Kalibratoren und Kontrollplasma: Die Kalibratoren und Kontrollplasma werden mit 500 µL Aqua dest. rekonstituiert und nach einer Rekonstitutionszeit von 15 Minuten 10 Sekunden gemischt (Probenmischer). Rekonstituierte Komponenten sind klar bis leicht trüb.
- Herstellen der Konjugatgebrauchslösung (1+50): 1 Volumenteil Konjugat mit 50 Volumenteilen Inkubationspuffer verdünnen.

**Für 8 Testvertiefungen: 20 µL Konjugat mit 1000 µL Inkubationspuffer mischen.**

### TESTVERFAHREN

PROBENINKUBATION (Hinweise 1,2)	Kalibratoren, Kontrollplasma, Proben in Testvertiefungen pipettieren.	25 µL
	Inkubationspuffer in alle Testvertiefungen pipettieren. Teststreifen mit Folie abdecken	75 µL
	Bei +37°C inkubieren	60 Minuten
KONJUGATREAKTION (Hinweise 1,2)	Testvertiefungen entleeren und Konjugatgebrauchslösung in Testvertiefungen pipettieren. Teststreifen mit Folie abdecken	100 µL
	Bei +37°C inkubieren	60 Minuten
WASCHEN ** (Hinweise 1,3,4)	Waschpuffer	3 x 200 µL
SUBSTRATREAKTION (Hinweis 1,2)	Substratlösung in Testvertiefungen pipettieren	100 µL
	Teststreifen mit frischer Folie abdecken	
	Bei Raumtemperatur inkubieren (+18...25°C)	10 Minuten
STOPPEN (Hinweis 1,2)	Stopplösung in Testvertiefungen pipettieren	100 µL
MESSEN (Hinweis 5)	ELISA-Reader, 450nm	10 Sek. Schütteln, Messung innerhalb von 10 Minuten

\*\*Bei Verwendung eines ELISA Automaten oder automatischen ELISA Washers bitte 6x waschen.

### HINWEISE

- Reagenzien verschiedener Chargen dürfen nicht kombiniert werden.
- Präzision und Wiederfindung hängen u.a. von folgenden Faktoren entscheidend ab:
  - Gute Durchmischung aller Verdünnungsansätze, 10 Sek. auf Probemischer
  - Durchführung von Doppelbestimmungen
  - Inkubation bei der korrekten Temperatur
  - Genaue Einhaltung von Pipettierreihenfolge und Zeitakt:
- Die angegebene Zeit für die Probeninkubation, Konjugat- und Substratreaktion wird nach der Pipettierung der letzten Probe genommen. Inkubationszeiten sollten um nicht mehr als ± 10% variiert werden.
- Bei der Probeninkubation und Konjugatreaktion darf die Zeit für die Pipettierung der verdünnten Kalibratoren / Proben / Kontrollplasma bzw. Konjugat-Lösung 60 Sek. pro ELISA-Teststreifen (8 Vertiefungen) nicht überschreiten.
- Bei der Substratreaktion und beim Stoppen darf die Pipettierzeit der Substrat- bzw. Stopplösung 10 Sek. pro ELISA-Teststreifen nicht überschreiten. Kurze Pipettierzeiten werden durch Verwendung von Mehrkanal- bzw. Dispensierpipetten erreicht.

**3. Nach dem letzten Waschvorgang müssen die Testvertiefungen leer gesaugt und auf saugfähigem Papier ausgeklopft werden.**

- Durch Differenzwellenlängenmessung bei 450 nm und 620 nm wird die Präzision des Tests erhöht.

### EINSCHRÄNKUNG DER TESTDURCHFÜHRUNG

Proben, die einen höheren Wert als der höchste Kalibrator haben, müssen mit einer größeren Verdünnung nochmals getestet werden, da bei einer Konzentration über 100ng/mL ein Hook-Dose Effekt auftritt.

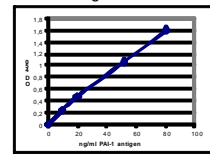
### ANALYSENERGEBNISSE

#### BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Erstellung der Bezugskurve:

X-Achse: Konzentration PAI-1 Antigen ng/mL  
 Y-Achse: Extinktion  
 Bezugskurve ist linear-linear

Beispiel einer Standardkurve



Beurteilung der Bezugskurve

- Die Extinktion des höchsten Kalibrators sollte zwischen 1,0 und 2,5 liegen.
  - Die Auswertbarkeit des Tests kann anhand der ermittelten Kontrollwerte überprüft werden
- Konzentrationsbestimmungen der Proben**
- Konzentrationen der Proben an der Bezugskurve ablesen.
  - Sollte der Extinktionswert einer Probe höher als der des höchsten Standards liegen, so muss die Probe mit Inkubationspuffer vorverdünnt werden (1+1). Die ermittelte Konzentration wird in diesem Fall mit dem Verdünnungsfaktor 2 multipliziert.

### REFERENZBEREICHE

Der Normalbereich von PAI-1 Antigen liegt zwischen 7 - 43 ng/mL (n= 32 Citrat Plasmen). Es wird empfohlen, dass jedes Labor einen eigenen Normalbereich bestimmt. PAI-1 Antigen Konzentrationen über 100 ng/mL können Anzeichen einer verminderten fibrinolytischen Kapazität sein und damit eine erhöhte Thrombose-Neigung anzeigen.  
 PAI-1 ist ein "Akutphasenprotein" und seine Konzentration im Plasma steigt als Folge von Interleukin 1 Effekten im Rahmen des Entzündungsgeschehens, bei Infektionen, bei manchen malignen Erkrankungen sowie nach Operationen an. Hohe PAI-1 Plasmaspiegel findet man jedoch auch bei Patienten nach Myokardinfarkt und solchen mit koronarer Herzkrankheit. Dieser Test mißt freien PAI-1 ebenso wie komplexierten und latenten PAI und wird nicht von anderen Plasminogenaktivator-Inhibitoren beeinflusst.

### Spezifische Leistungsdaten

Nachstehend werden repräsentative Leistungsdaten angezeigt. Die Ergebnisse des einzelnen Labors können davon abweichen.

### PRÄZISION

Die Reproduzierbarkeit wurde mit verschiedenen Proben bestimmt (in Serie und von Tag zu Tag). Die Ergebnisse sind wie folgt:

Probe	Intra-assay		Inter assay	
	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
N	12	12	6	6
Mean (ng/mL)	42,70	7,63	49,76	7,22
SD (ng/mL)	1,01	0,41	2,41	0,54
CV (%)	2,4	5,4	4,8	7,5

### MESSBEREICH

4 – 100 ng/mL

### BESTIMMUNGSGRENZE

0,5 ng/mL

### STANDARDISIERUNG

Zur Kalibrierung wurde der WHO International Standard für Plasminogen Aktivator Inhibitor-1 (PAI-1) verwendet.

### LITERATUR

Binder BR, Geiger M. Plasminogen activator inhibitor: Biological effects. In: *New Trends in Haemostasis, Coagulation Proteins, Endothelium and Tissue Factors*, edited by Hasenberger, J Heene, D.L., Stehle, G., Scheitler, G. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag Berlin, 1990;221-231.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

INDICAZIONI D'USO

Il TECHNOZYM® PAI-1 Antigen ELISA può essere usato per determinare i livelli di antigene PAI-1 in soggetti con disordini trombotici (trombosi venosa profonda, infarto del miocardio, ictus), tumori o setticemia.

COMPOSIZIONE

- ELISA test strips (12), con 8 pozzetti ciascuna, rivestiti con Ab monoclonali anti PAI-1 contenuti in sacchetto di alluminio con dissecante
- Washing buffer concentrato (PBS; pH 7,3); contiene detergente; 0.01% mertiolato; 1 bottle, 80 mL.
- Incubation buffer (PBS; pH 7,3); contiene protein stabilizzanti; 0.05% proclina e colorante, 1 fiala 90 mL, pronto uso.
- Calibratori (Standards) numerati; liofilizzati; 1 fiala ciascuno. **Concentrazioni lotto-specifiche; consultare l'etichetta sulla fiala di ciascun calibratore**
- Plasmi di controllo "livello basso" e "livello alto" liofilizzati; 1 fiala ciascuno. **Concentrazioni lotto-specifiche; consultare l'etichetta sulla fiala di ciascun controllo**
- Coniugato monoclonale Anti-PAI-1-POX; colorato di blu; 1 fiala, 0,3 mL.
- Cromogeno TMB (tetramethylbenzidine); 1 fiala, 12 mL; pronto uso.
- Stopping solution acido solforico 0.45 mol/L; 1 fiala 12 mL; pronto uso.
- Pellicola adesiva: per strips ELISA (2 fogli).

MATERIALI NECESSARI (non forniti con il kit)

- acqua distillata
- provette per diluire standard e campioni
- cilindri graduati (100 ml e 1000 mL)
- pipette di precisione (10, 100 e 1000 µL)
- pipette regolabili (1000 µL)
- pipette multicanale o multidispensazione (100 e 200 µL)
- lavatore ELISA o pipetta multicanale
- lettore ELISA con filtri 450 nm, e filtro di riferimento a 620 nm.
- Incubatore (+37°C)

ATTENZIONI E PRECAUZIONI

- Tutti i prodotti del sangue o del plasma così come tutti i campioni devono essere considerati come potenzialmente infetti. Devono essere maneggiati con particolare attenzione e in stretta osservanza delle regole di sicurezza. Le regole riguardanti l'eliminazione sono le stesse applicate allo smaltimento riguardante gli ospedali.
- I calibratori e i plasmi controllo sono prodotti a partire da sangue umano e ogni plasma è stato testato e trovato negativo per gli anticorpi per l'HIV 1/2, HBs Ag e HVC (guardare l'etichetta sulle vials). Comunque tutti i prodotti derivati da sangue umano dovrebbero essere maneggiati con cura come se fossero materiale potenzialmente infetto.
- La Stopping Solution (acido solforico) potrebbe essere irritante per la pelle. Se l'acido viene a contatto con gli occhi, risciacquare immediatamente e consultare un dottore.
- Qualche volta i reagenti contengono composti conservanti (mertiolato). Stare attenti a non ingerire! Evitare il contatto con la pelle o le membrane mucose

STABILITA' E CONSERVAZIONE

La data di scadenza riportata sull'etichetta è relativa alla conservazione della fiala non aperta a +2...8°C.

Stabilità dopo ricostituzione e aperture:

Materiali/Reagenti	Stato	Conservazione	Stabilità
Calibratori, plasmi di controllo	dopo ricostituzione	-20 °C	6 mesi
ELISA test strip	dopo apertura	+2...8 °C in busta con dissecante e pellicola adesiva	data di scadenza
Washing buffer concentrato	dopo apertura	+2...8°C	6 mesi
Washing buffer	1+11,5 diluizione del concentrato	+2...8°C	3 settimane
Incubation buffer	dopo apertura	+2...8°C	2 mesi
Coniugato	dopo apertura	+2...8°C	6 mesi
	soluzione di lavoro	TA +18...25°C	60 minuti
Cromogeno TMB	dopo apertura	+2...8°C	data di scadenza

PROCEDURA TEST

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Tipologia campione: Plasma.  
 Utilizzare provette del commercio con agenti stabilizzanti le piastrine quali CTAD. 90% dell'antigene PAI-1 si trova nelle piastrine, pertanto è essenziale assicurare che le piastrine non siano danneggiate durante il prelievo.  
 Si possono usare plasma citrate ed EDTA.  
 Centrifugare per 15 minuti ad almeno 2500 g (DIN 58905). I campioni dopo prelievo possono essere conservati fino a 3 ore a T° Ambiente. A -20°C possono essere conservati per 6 mesi. Evitare cicli di congelamento e scongelamento ripetuti.  
 Non utilizzare siero (contiene PAI-1 piastrinico, che induce elevate livelli di PAI-1). Possono essere usati anche sovrannatanti cellulari ed estratti di tumori, nonostante il saggio sia stato ottimizzato per siero e plasma, pertanto i fattori di diluizione per altri campioni devono essere autonomamente stabiliti

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

- Portare tutti i reattivi a T° Ambiente
- Preparazione del washing buffer: Diluire 1 parte del washing buffer concentrato con 11,5 parti di acqua distillata (1+11,5). Agitare bene! Eventuali cristalli precipitate si sciolgono ponendo la soluzione diluita a 37°C per 10 minuti.
- Contrassegnare con pennarello indelebile le strip, in caso di caduta accidentale, per poterle identificare senza fatica
- Ricostituzione calibratori e controlli: Calibratori e plasmi di controllo sono ricostituiti con 500 µL di acqua distillata e posti in vortex per 15 minuti. Agitare altri 10 secondi dopo tale tempo. I reagenti ricostituiti possono essere trasparenti o leggermente torbidi.
- Preparazione del coniugato (1+50): Diluire 1 parte con 50 parti di incubation buffer

per 8 test pozzetti: Mescolare 20 µL coniugato con 1000 µL incubation buffer

PROCEDURA DEL TEST

INCUBAZIONE CAMPIONE (rif. 1,2)	Calibratori, controlli e campioni nei pozzetti aggiungere l'incubation buffer a tutti i pozzetti e coprire con il foglio adesivo	25 µL 75 µL
	incubare a +37°C	60 minuti
CONIUGATO (rif.1,2)	svuotare completamente i pozz., dispensare il coniugato preparato e coprire	100 µL
	incubare a +37°C	60 minuti
LAVAGGIO ** (rif. 1,3,4)	washing buffer	3 x 200 µL
SUBSTRATO (rif.1,2)	pipettare il substrato e coprire le strip	100 µL
	incubare a T° amb (+18...25°C)	10 minuti
STOP SOLUTION (rif. 1,2)	dispensare la stop solution nei pozzetti	100 µL
LETTURA (rif. 5)	ELISA-Reader, 450 nm	agitare 10 sec., leggere entro 10min

\*\*se eseguito in automazione, programmare 6 lavaggi.

Rif.

- non mescolare reagenti di lotti diversi
- Precisione e performance, tra le varie cose, dipendono essenzialmente da questi fattori:
  - miscelare tutte le componenti usate per la diluizione 10 secondi con il Vortex Mixer.
  - utilizzare i calibratori, i controlli e i campioni in duplicato.
  - incubare alla temperatura indicata
  - Osservare rigorosamente l'ordine di dispensazione dei vari reagenti e i tempi come indicato
- Il tempo di incubazione di coniugato, substrato e campioni inizia dopo dispensazione dell'ultimo campione. Il tempo di incubazione non dovrebbe variare più del 5%. Durante la dispensazione dei campioni e del coniugato, il tempo di dispensazione dei calibratori/controlli, campioni e / o coniugato non dovrebbe eccedere i 60 secondi per strip (8 pozzetti)
- Durante la reazione del substrato e della soluzione di stop, il tempo per la dispensazione non dovrebbe eccedere i 10 secondi per strip ELISA. Si possono abbreviare i tempi di dispensazione con l'uso di una multicanale

**3. dopo l'ultimo lavaggio asciugare accuratamente i pozzetti battendo le strip su carta assorbente. Riporre i pozzetti non usati con cura**

- La precisione del test è aumentata se si calcola la differenza tra la lettura a lunghezza d'onda 450 nm e quella a 620 nm o a 450 e 690 nm

LIMITI DEL TEST

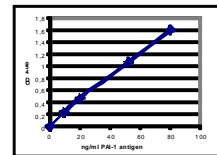
Campioni con OD superiori all'ultimo calibratore vanno diluiti per evitare l'effetto gancio, solitamente evidente oltre 130 ng/mL.

ANALISI DEI RISULTATI

CALCOLO DEI RISULTATI

Costruzione della curva:

X axis: Concentrazione PAI-1 antigen ng/ml  
 Y axis: OD  
 Grafico linear-linear.



Validazione della curva

- l'OD del calibratore più alto dovrebbe ricadere tra 1,0 e 2,5.
- la validità del test deve essere data anche alla luce dei valori dei controlli.

Misurazione della concentrazione dei campioni

- leggere la concentrazione dal riferimento della curva standard
- se vi sono campioni con OD superiore a quella del più alto punto della curva, essi vanno diluiti con l'incubation buffer (1+1). La concentrazione misurata andrà poi moltiplicata per il fattore di diluizione 2.

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

Intervallo normale: 7- 43 ng/mL (n = 32 plasmi citrato)

Si raccomanda ad ogni laboratorio di stabilire i propri range. Livelli di Ag PAI-1 superiori a 100 ng/ml possono indicare una ridotta capacità fibrinolitica e quindi un potenziale aumento del rischio e della tendenza trombotica. PAI-1 è una proteina di fase acuta e la concentrazione nel plasma aumenta in condizione in cui IL1 aumenta (es. infezioni, tumori, convalescenza post-operazioni). Elevati livelli di PAI-1 sono associate anche ad infarto del miocardio e patologie coronariche. Tale saggio misura PAI-1 libero, latente e complessato e non è influenzato da inibitori del plasminogeno.

PERFORMANCE

I risultati potrebbero differire di laboratorio in laboratorio.

PRECISIONE

Riproducibilità ottenuta su vari campioni (ripetuti in serie e quotidianamente).

Campione	Intra assay		Inter assay	
	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
N	12	12	6	6
Media (ng/mL)	42,70	7,63	49,76	7,22
SD (ng/mL)	1,01	0,41	2,41	0,54
CV (%)	2,4	5,4	4,8	7,5

INTERVALLO DEL SAGGIO

4 - 100 ng/mL

LIMITE DI RILEVAZIONE

0,5 ng/mL

STANDARDIZZAZIONE

Il material di calibrazione usato è lo standar internazionale WHO per Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1).

LETTERATURA

Binder BR, Geiger M. Plasminogen activator inhibitor: Biological effects. In: New Trends in Haemostasis, Coagulation Proteins, Endothelium and Tissue Factors, edited by Hasenberg, J Heene, D.L., Stehle, G., Scheitler, G. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag Berlin, 1990:221-231.



## DESCRIPTION DU PRODUIT

### UTILISATION PRÉVUE

Le TECHNOZYM® PAI antigène ELISA peut être utilisé pour doser le PAI-1 antigène chez les patients qui présentent des désordres thrombotiques (Thrombose veineuse profonde, Infarctus du Myocarde), cancer ou septicémie.

### CONTENU

- 1 x 12 Barrette ELISA de 8 puits : Chaque puits est pré-coaté avec un anticorps monoclonal anti PAI-1. (Un agent déshydratant est emballé dans un sac aluminium pour une meilleure conservation des barrettes)
- 1 x 80 ml Tampon de lavage concentré : (PBS; pH 7,3) ; contient un détergent; 0,01% de merthiolate
- 1 x 90 ml Tampon d'incubation : (PBS; pH 7.3); contient un stabilisateur de protéines : 0.05% procline et colorant, **prêt à l'emploi.**
- 5 x 0,2 ml Calibrateurs numérotés de 1 à 5 : Lyophilisés. **Les concentrations sont dépendantes du lot; consulter les étiquettes sur les flacons.**
- 5 x 0,2 ml Plasmas de contrôle haut et bas : Lyophilisés. **Les concentrations sont dépendantes du lot; consulter les étiquettes sur les flacons.**
- 1 x 0,3 ml Conjugué concentré : Anticorps monoclonal Anti-PAI-1-POX ; colorant bleu
- 1 x 12 ml Substrat Chromogène : TMB (tétraméthylbenzène); **prêt à l'emploi.**
- 1 x 12 ml Solution d'arrêt : Acide sulfurique 0,45 mol/L; **prêt à l'emploi.**
- 2 x 1 Film adhésif : Pour les barrettes ELISA

### MATÉRIEL REQUIS (non fourni dans le coffret)

1. Eau distillée
2. Tubes de dilution pour les standards et les échantillons
3. Epruvette graduée de 1000 mL
4. Pipettes de précision (10, 100, 1000 µL)
5. Pipette réglable (1000 µL)
6. Pipettes multi canaux (100, 200 µL)
7. Automate de lavage ELISA ou pipette multi canaux.
8. Lecteur de plaque ELISA équipé d'un filtre à 450 nm et si possible d'un filtre de référence à 620 nm.
9. Incubateur (37 °C)

### AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Tous les produits sanguins et plasmatiques doivent être considérés comme étant potentiellement infectieux. Ils doivent être manipulés avec soin et ceci dans la stricte observation des règles de sécurité. Les règles concernant le stockage des déchets sont identiques à celles appliquées à l'hôpital.
- Les calibrateurs et contrôles plasmatiques sont élaborés à partir de sang humain, et chaque plasma utilisé est vérifié HbsAg, VIH 1 et VIH 2 Ac et HCV-Ac négatif (voir les étiquettes sur le coffret et/ou sur les flacons).
- Une solution d'arrêt (acide sulfurique) peut être irritante pour la peau. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec de l'eau distillée et consulter un médecin.
- Les réactifs contiennent des agents préservant (merthiolate). Ne pas avaler! Éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses.

### STABILITÉ ET STOCKAGE

Tous les composants non ouverts de ce coffret doivent être utilisés avant la date de péremption indiquée et se conservent entre 2 et 8°C. La stabilité des composants après ouverture, reconstitution et/ou dilution est documentée dans le tableau ci-dessous:

Matériel/Réactif	État	Stockage	Stabilité
Calibrateur et plasmas de contrôles	Après reconstitution	-20°	6 mois
Barrette ELISA	Après ouverture	2-8 °C sous film adhésif avec agent déshydratant dans un sac en plastique	Date de péremption
Tampon de lavage concentré	Après ouverture	2-8 °C	6 mois
Tampon de lavage	Dilution au 1+11,5 du tampon de lavage concentré	2-8 °C	3 semaines
Tampon d'incubation	Après ouverture	2-8 °C	2 mois
Conjugué	Après ouverture	2-8 °C	6 mois
	Solution de travail	Température ambiante	60 minutes
Substrat TMB	Après ouverture	2-8 °C	Date de péremption

## PROCÉDURE DU TEST

### PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Matériel : Plasma

Il est hautement recommandé d'utiliser des tubes de collectes disponibles sur le commerce contenant les agents stabilisants des plaquettes sanguines par exemple CTAD (Greiner). 90% des Antigènes PAI-1 sont contenus dans les plaquettes sanguines, il est donc essentiel d'assurer leur absence de dommage lors de la collecte d'échantillon qui aurait pour conséquence d'élever le taux de PAI-1 plasmatique.

Les plasmas citratés ou enrichis en EDTA peuvent être utilisés. Centrifuger pendant 15 minutes avec une FCR (force centrifuge radiale) d'au moins 2500g (DIN 58905). Les échantillons de plasmas peuvent être conservés pendant 3 heures à température ambiante, autrement, ils doivent être immédiatement congelés à -20° minimum après centrifugation. Les plasmas ainsi obtenus sont stables à -20°C pendant 6 mois.

Les échantillons de sérum ne doivent pas être utilisés car ils présentent un taux élevé de PAI-1 corrélé au contenu plaquettaire en PAI-1. Les surnageants de culture cellulaire et les extraits de tumeur peuvent être utilisés, mais ce test ELISA a été optimisé pour l'utilisation d'échantillons plasmatiques, il faudra en conséquence utiliser d'autres facteurs de dilution.

### PRÉPARATION DES RÉACTIFS

1. Tous les composants doivent être amenés à la température ambiante avant de commencer le test.
2. **Préparation du tampon de lavage:** Diluer 1 volume de tampon de lavage concentré avec 11,5 volumes d'eau distillée (1+11,5). Bien mélanger. Il se peut qu'il y ait des précipitations cristallines: celles-ci se dissolvent à 37°C en 10 minutes.
3. **Reconstitution des calibrateurs et des plasmas de contrôle:** Les calibrateurs et les plasmas de contrôle sont reconstitués avec 500 µL d'eau distillée et mélangés au vortex pendant 10 secondes après un temps de reconstitution de 15 minutes. Les composants ainsi reconstitués sont claires ou légèrement troubles.
4. **Préparation de la solution de travail du conjugué (1+50):** Diluer 1 volume de solution de conjugué concentré dans 50 volumes de tampon d'incubation. (1+50).

**Pour une barrette de 8 puits: Mélanger 20 µL de conjugué concentré dans 1000 µL de tampon d'incubation.**

## PERFORMANCE DU TEST

INCUBATION DES ÉCHANTILLON	Pipeter les calibrateurs, plasmas de contrôle et échantillons dilués dans chaque puits. Ajouter le tampon d'incubation couvrir avec le film	25 µL 75µL
	Couvrir les barrettes avec un film Incuber à 37°C	60 minutes
INCUBATION DU CONJUGUE	Pipeter la solution de travail du conjugué dans chaque puits.	100 µL
(références 1, 2)	Couvrir les barrettes avec un film Incuber à 37°C	60 minutes
LAVAGE	Pipeter le tampon de lavage dans les puits. Répéter l'opération 3 fois.	3 x 200 µL
VIDER LES PUIITS PAR ASPIRATION PUIS TAPOTER LA PLAQUE APRÈS RETOURNEMENT SUR DU PAPIER ABSORBANT POUR BIEN ELIMINER LES RESTES DE TAMPON		
RÉACTION DU SUBSTRAT	Pipeter la solution de substrat dans chaque puits. Couvrir les barrettes avec un film.	100 µL
(référence 1,2)	Couvrir les barrettes avec un film puis incuber à température ambiante (20-25°C)	10 minutes
SOLUTION D'ARRÊT	Pipeter la solution d'arrêt dans chaque puits	100 µL
MESURE	Lecteur de plaque ELISA, 450 nm	Agiter 10 secondes, Mesurer dans les 10 minutes qui
(référence 5)		

Température ambiante: 20-25°C

### Références:

1. Ne pas utiliser ensemble des réactifs provenant de différents lots.
2. La performance et la précision du test dépendent des facteurs suivants:
  - Bien mélanger les substances utilisées lors des dilutions.
  - Les calibrateurs, les contrôles et les échantillons doivent être testés en double.
  - Les incubations doivent être effectuées à la bonne température.
  - Respecter strictement l'ordre de pipetage et le temps pour chaque élément comme indiqué.
  - Le temps d'incubation des échantillons, conjugués, et substrat démarre après le pipetage du dernier échantillon. Les temps d'incubation ne doivent pas varier de +/- 10%.
  - Durant l'incubation de l'échantillon et la réaction du conjugué, le temps nécessaire au pipetage du calibrateur/échantillon/plasma de contrôle dilué et/ou des solutions de conjugué, ne doivent pas excéder 60 secondes par barrette de test ELISA (8 puits).
  - Durant la réaction du substrat et lors de l'arrêt de la réaction, le temps nécessaire au pipetage du substrat et/ou la solution d'arrêt ne doit pas excéder 10 secondes par barrette ELISA. Pour cela utiliser de préférence une pipette multi canaux.
3. Numéroté les barrettes avec un feutre résistant à l'eau au cas où les bandes tombent accidentellement de la plaque durant le test.
4. Après le dernier lavage, les puits doivent être rigoureusement secs : Pour cela positionner la plaque d'analyse sur du papier absorbant et taper doucement la plaque d'analyse.
5. Mesurer l'absorbance à 450 et 620 nm ou à 450 et 690 nm, la précision du test est alors augmentée.

### LIMITES DU TEST

Les échantillons présentant des valeurs plus élevées que le calibrateur le plus élevé doivent être testés à nouveau avec un facteur de dilution plus important.

## ANALYSE DES RÉSULTATS

### CALCUL DES RÉSULTATS

Établissement de la courbe de référence: Axe X : Concentration de PAI-1 ng/ml

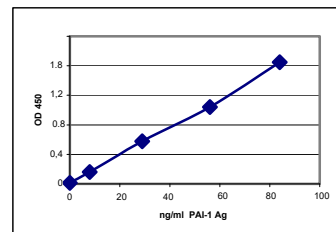
Axe Y : Absorbance

La courbe de référence est linéaire ou en point au point.

### Évaluation de la courbe de référence:

- Le coefficient de la courbe d'extinction du calibrateur le plus grand doit se situer entre 1,0 et 2,5.
- La validité du test doit être vérifiée sur la base des valeurs calculées des contrôles.

### Exemple de la courbe standard



### Mesure des concentrations des échantillons:

- Lire la concentration à partir de la courbe de référence.
- Si des échantillons présentent un coefficient d'extinction supérieur à celui du plus haut point de la courbe de référence, il doit alors être pré-dilué avec le tampon d'incubation (au 1/2ème ou 1/4ème), et la concentration mesurée doit alors être multipliée par 2 ou 4.

### GAMME DE RÉFÉRENCE

Le taux normal de plasma est compris entre 7-43ng/ml. Il est recommandé que les différents laboratoires établissent leur propre zone de normalité. Les taux de PAI-1 au-delà de 100ng/ml indiquent une capacité fibrinolytique réduite et donc une augmentation de la tendance à la thrombose. Des mesures doivent être prises pour réduire le risque de thrombose chez les individus présentant un taux élevé de PAI-1 plasmatique. TECHNOZYM® PAI-1 Antigen ELISA mesure le PAI-1 libre, latent et complexé et n'est pas affecté par d'autres formes d'inhibiteurs du plasminogène.

### PRÉCISION

La reproductibilité a été déterminée avec différents échantillons (en séries et sur plusieurs

jours) Les résultats suivants ont été obtenus:

Echantillon	Intra essai variation		Inter essai variation	
	Ech 1	Ech 2	Ech 3	Ech 4
N	12	12	6	6
Moy (ng/mL)	42.70	7.63	49.76	7.22
SD (ng/mL)	1.01	0.41	2.41	0.54
CV (%)	2.4	5.4	4.8	7.5

### ZONE DE MESURE

4 – 100 ng/mL

### DETECTION LIMITE

0.5 ng/mL

### STANDARDISATION

Le matériel de calibration utilisé est le standard International pour l'Inhibiteur de l'Activateur du Plasminogène (PAI-1) homologué par l'OMS.