


TECHNOZYM[®] PAP Complex ELISA Kit

For research use only








GB

DE

REF	TC12060	TECHNOZYM [®] PAP Complex ELISA Kit	
REF	TC12062	TECHNOZYM [®] PAP Calibrator Set	5 x 0.5 mL
REF	TC12064	TECHNOZYM [®] PAP Control Set	2 x 0.5 mL

Symbols key / Symbolschlüssel

(if applicable / wenn anwendbar)

	Manufactured by / Hergestellt von	LOT	lot / Charge
	expiry date / Verfallsdatum	MTP	Microtiter plate / Mikrotiterplatte
	Storage Temperature / Lagertemperatur	REF	Catalogue number / Katalognummer
	Consult instructions for use / Gebrauchsanweisung beachten	RTU	ready to use / gebrauchsfertig
	determinations/ Bestimmungen	RUO	research use only / nur für Forschungszwecke
AQUA	distilled Water / destilliertes Wasser	SUB	Substrate / Substrat
CONJ	conjugate/ Konjugat	STOP	stop solution/ Stopplösung
DIL	dilute or dissolve in / verdünnen oder lösen in	WASH	washing solution concentrate/ Waschlösungskonzentrat



PRODUCT DESCRIPTION

INTENDED USE

The TECHNOZYM® Plasmin- α -2-antiplasmin (PAP) complex ELISA can be used to detect elevated levels of this complex which may occur during thrombotic events, in cases of endogenous hyperfibrinolysis and during thrombolytic therapy.

COMPOSITION

- ELISA test strips (12): with 8 wells each, precoated with a monoclonal antibody directed against the neoantigen in the PAP complex; the drying agent is supplied in an aluminium bag
- Washing buffer concentrate (PBS; pH 7.3); containing detergent; 2 vials, 20 mL each.
- Dilution buffer concentrate (PBS; pH 7.3); contains stabiliser protein and protease inhibitors; 1 vial; 20 mL
- Calibrators (Standards) numbered 1-5; lyophilised; 1 vial each; 500 μ L.
Concentrations are lot-dependent; consult the label on the vial.
Control plasmas "low level" and "high level"; lyophilised; 1 vial each.
Concentrations are lot-dependent; consult the label on the vial.
- Conjugate: anti-Plasminogen POX; dyed blue; 1 vial, 0.3mL
- Chromogenic substrate TMB (tetramethylbenzidine); 1 vial; 12 mL; ready to use
- Stopping solution: sulphuric acid 0.45 mol/L; 1 vial; 12 mL; ready to use.
- Adhesive film: for ELISA test strips; 2 pieces

MATERIAL REQUIRED (but not supplied with the kit)

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

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.
- The calibrator made from human blood and any individual plasma involved in the procedure is HBsAg, 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. 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
Dilution buffer	After opening	2...8°C	3 months
Wash buffer	After opening	2...8°C	3 months
POX AB	Working solution	RT	60 min
Calibrators, control plasmas	After reconstitution	-20°C	6 months
		RT	4 hours

TEST PROCEDURE

PREPARATION OF TEST SAMPLES

In general citrated plasma can be used. For patients undergoing thrombolytic therapy "inhibitor cocktail" plasma samples (citra plasma containing 2000 KIU/mL aprotinin and 20mM benzamidine) should be used. For this purpose collect the blood of patients to be tested in pre-coated plastic or siliconized tubes already containing 3.2% buffered citrate in 1:10 ratio to blood as anticoagulant as well as aprotinin and benzamidine in a ratio yielding the final concentrations of 2000 KIU/mL and 20mM, respectively. As alternative, commercially available PPACK tubes can be used. After filling the tubes, samples should be gently mixed by inverting the tube 5 times, and, then are placed in a crushed ice-water mixture. Centrifuge the blood within 30. min. after the puncture at 2000 xg for 30 min. at 4°C (preferably in a cold centrifuge with swing out rotor). Immediately after centrifugation, plasma should be carefully pipetted off and collected in a small plastic tube. After carefully mixing of the pooled plasma, precooled and prelabelled plastic tubes for storage are filled. The freezing operation is very important: snap-freezing, that means almost instantaneous freezing, is highly recommended. Storage temperature should be kept constantly below a temperature of -30°C, and preferably at -70°C. The total time between blood collection and plasma freezing should not exceed 90 min. Thawing and refreezing of plasma aliquots is not recommended. Thawing for assay is achieved rapidly using a water bath at 37°C. After thawing, plasma samples are placed in a crushed ice-water mixture until analysis. Haemolytic and lipaemic plasmas may be used if no other samples are available.

PREPARATION OF REAGENTS

- Before starting the test, all required components are to be brought to room temperature.
- Preparation of washing buffer: Mix 20 mL of washing buffer concentrate with 230 mL of distilled water (1:12.5). Mix well!!! There may be crystalline precipitations which will dissolve at 37°C within 10 minutes.
- Preparation of dilution buffer: Mix 20 mL of dilution buffer concentrate with 30 mL of distilled water (1:2.5). Mix well!!!
- Reconstitution of calibrators and control plasmas: Calibrators and control plasmas are reconstituted with **500 μ L** distilled water and mixed for 10 seconds after a reconstitution time of 15 min. (vortex mixer).
Reconstituted components are clear to slightly turbid.
Calibrators and Control plasmas are used undiluted.
- Sample dilution:
 - For determination of LOW PAP LEVELS
Sample dilution 1:10
25 μ L plasma + 225 μ L dilution buffer
 - For determination of HIGH PAP LEVELS
Sample dilution 1:100 or 1:1000
Predilution 1:10: 20 μ L plasma + 180 μ L dilution buffer
1:100: 25 μ L predilution + 225 μ L dilution buffer
1:1000: 10 μ L predilution + 990 μ L dilution buffer

- Preparation of conjugate working solution (1+50): Dilute 1 part by volume conjugate with 50 parts by volume incubation buffer.

For 8 test wells: Mix 20 μ L conjugate with 1000 μ L dilution buffer

PERFORMANCE OF THE TEST

SAMPLE INCUBATION (reference 1,2)	Pipette calibrators, control plasmas, diluted samples into test wells; cover test strips with film	100 μ L
	Incubate at 2...8°C	Over night
WASHING (reference 1,3,4)	Washing buffer	4 x 200 μ L
CONJUGATE REACTION (reference 1,2)	Pipette conjugate working solution into wells, cover test strip with film	100 μ L
	Incubate at 37°C	2 hours
WASHING (reference 1,3,4)	Washing buffer	4 x 200 μ L
SUBSTRATE REACTION (reference 1,2)	Pipette substrate solution into test wells, cover test strip with film	100 μ L
	Incubate at room temperature	20 minutes
STOPPING (reference 1,2)	Pipette stopping solution into wells	100 μ L
MEASURING (reference 5)	ELISA-Reader, 450 nm	shake 10 sec., measure within 10 min.

References:

- Reagents of different lots must not be combined
- Precision and performance, among others, essentially depend on the following factors:
 - Through mixing of all substances used for dilution, 10 sec. with Vortex Mixer
 - Test calibrators and samples in duplicates
 - Incubate at indicated temperature (Room temperature: 20...25°C)
 - 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 \pm 5 %.
 - During sample incubation and conjugate reaction, the time for pipetting calibrators, samples and 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.
- Label/number strips with a water resistant pen in case the strips accidentally fall out of the frame during testing.
- 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.
- By measuring the difference in wave length at 450 and 620 nm the precision of the test is increased.

LIMITATION OF THE TEST

Samples collected in citrated plasma without inhibitors may be used only if patients are not undergoing thrombolysis therapy. Otherwise PAP complexes can form ex vivo and lead to false high levels of PAP.

ANALYSES RESULTS

CALCULATION OF THE RESULTS

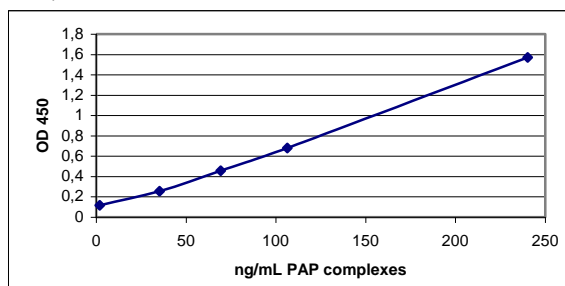
Setting up a reference curve: X axis: concentration PAP complexes (ng/mL)
Y axis: extinction at 450 nm

Graph plot is linear – linear with a point to point or cubic spline fit.

Assessment of reference curve

- The extinction coefficient of the highest calibrator should be between 1.0 and 2.5.
- The extinction coefficient of the lowest calibrator should be <0.2.
- The extinction difference between these two values should be at least 1.0.
- The validity of the test may be checked on the basis of in house controls.

Example of standard curve:



Measuring concentration of samples

- Read off the concentration from the reference curve.
Do not forget to multiply the results by a factor 10, 100 or 1000 for diluted samples.

REFERENCE RANGE

Normal range of PAP levels are 0 – 514 ng/mL. PAP-levels above 120 μ g/mL during lytic therapy indicate complete consumption of α -2-antiplasmin which may lead to generalised plasminemia.

STANDARDISATION

The standard was calibrated against PAP complexes made in vitro from purified components.

LITERATURE

- E.Hathey, M. Haumer, M.R.Griffiths, V.Carroll, B.R. Binder: Plasmin- α -2-antiplasmin complexes. In: ECAT Assay Procedures 2nd Revised edition; A Manual of Laboratory Techniques. Kluwer Academic Publishers; Editors: J. Jespersen, R.M. Bertina, F. Haverkate; pp.265-274, 1999
- V. Carroll, M. Griffith, M. Geiger, C. Merlo, M. Furlan, B. Lämmle, B.R.Binder. Plasma Protein C Inhibitor is elevated in survivors of Myocardial Infarction. Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biol. Vol 17, No. 1, 1/1997.
- E.Hathey, J.Wojta, K.Huber, B.R.Binder: Development and evaluation of ELISA systems for determination of plasmin- α -2-antiplasmin (PAP) complexes in plasma. Fibrinolysis Suppl., Abstract 152, 1986.

PRODUKTBECHREIBUNG ANWENDUNG

Der TECHNOZYM® Plasmin- α -2-Antiplasmin (PAP) Complex ELISA ist ein quantitativer Test zur Bestimmung von erhöhten Konzentrationen dieses Komplexes. Diese erhöhten Konzentrationen können während thrombotischen Vorfällen, bei endogener Hypofibrinolyse und während thrombolytischer Therapie vorkommen.

ZUSAMMENSETZUNG

- ELISA-Teststreifen (12): mit jeweils 8 Testvertiefungen; beschichtet mit einem monoklonalen, gegen das Neocantigen im PAP Komplex gerichteten, Antikörper; mit Trocknungsmittel im Aluminiumbeutel verpackt.
- Waschpufferkonzentrat (PBS; pH 7,3); detergenshaltig; 2 Fl.; je 20mL.
- Verdünnungspufferkonzentrat (PBS; pH 7,3); enthält Stabilisatorprotein und Protease Inhibitoren; 1 Fl.; 20mL.
- Kalibratoren (Standards) nummeriert 1-5, lyophilisiert; jeweils eine Flasche.: 1Fl.; 500 μ L. **Die chargenabhängige Konzentration entnehmen Sie bitte der Flaschenetikette!** Kontrollplasmen "high level" und "low level"; zur Richtigkeitskontrolle; lyophilisiert; jeweils eine Flasche. **Die chargenabhängigen Konzentrationen entnehmen Sie bitte den Flaschenetiketten!**
- Konjugat: anti Plasminogen POX; blaufärbt; 1 Fl.; 0,3mL.
- Chromogenes Substrat: TMB (Tetramethylbenzidin); 1 Flasche, 12 mL, gebrauchsfertig
- Stopplösung: Schwefelsäure 0,45 mol/L; 1 Flasche; 12 mL, gebrauchsfertig.
- Ableblefolien: für ELISA-Teststreifen, 2 Stück

BENÖTIGTES MATERIAL (nicht im Kit enthalten)

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

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur für Forschungszwecke
- 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.
- Obwohl der Kalibrator aus humanem Blut hergestellt wurde, und alle hierzu verwendeten Einzelplasmen HbsAg, HIV 1/2 Ak und HCV-Ak negativ (siehe Flaschenetikett) sind, muss der Kalibrator als potentiell infektiös betrachtet werden.
- Stopplösungen (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. 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
Verdünnungspuffer	Nach Öffnen	2...8°C	3 Monate
Waschpuffer	Nach Öffnen	2...8°C	3 Monate
POX Ak	Gebrauchslösung	RT	60 Minuten
Kalibratoren + Kontrollen	Nach Rekonstitution	-20°C	6 Monate
		RT	4 Stunden

TESTDURCHFÜHRUNG

VORBEREITUNG DER PROBEN

In der Regel kann Zitratplasma verwendet werden. Für Patienten mit thrombolytischer Therapie sollte Plasma mit „Inhibitor Cocktail“ (Zitratplasma, welches 2000 KIU/mL Aprotinin und 20mM Benzamidin enthält) verwendet werden. Zu diesem Zweck bei den zu testenden Patienten das Blut in vorbeschichtete Kunststoff oder silikonisierte Röhrchen abnehmen. Diese Röhrchen sollten bereits 3,2% gepuffertes Citrat in einem 1:10 Verhältnis zu Blut als Antikoagulant und Aprotinin und Benzamidin in einer jeweiligen Endkonzentration von 2000 KIU/mL bzw. 20 mM enthalten. Als Alternative können handelsüblich erhältliche PPACK Röhrchen verwendet werden. Nach dem Füllen sollten die Proben sanft durch fünfmaliges umwenden gemischt werden und danach in einem Eiswasser platziert werden. Spätestens 30 min. nach der Abnahme sollte die Probe bei 2000 g und 4°C (vorzugsweise in einer gekühlten Zentrifuge mit ausschwingendem Rotor) zentrifugiert werden. Sofort nach der Zentrifugation sollte das Plasma vorsichtig abpipettiert und in einem Kunststoffröhrchen aufgefangen werden. Der Einfriervorgang ist sehr wichtig: Schockgefrieren wird empfohlen. Die Lagertemperatur sollte konstant unter einer Temperatur von -30°C gehalten werden, vorzugsweise sogar bei -70°C. Die gesamte Zeit zwischen Blutabnahme und Einfrieren des Plasmas sollte 90 min nicht überschreiten. Auftauen und erneutes Einfrieren der Proben wird nicht empfohlen. Um das Plasma für den Test aufzutauen, wird die Verwendung eines 37°C Wasserbades empfohlen. Nach dem Auftauen sollten die Proben bei 4°C bis zur Analyse gelagert werden. Haemolytische und lipaemische Plasmen können verwendet werden falls keine anderen Proben verfügbar sind.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Vor Testbeginn alle benötigten Testkomponenten auf Raumtemperatur bringen.
- Herstellen des Waschpuffers: 20 mL Waschpufferkonzentrat mit 230 mL Aqua dest. verdünnen (1:12,5). Gut mischen! Eventuelle kristalline Niederschläge gehen bei 37°C innerhalb von 10 min in Lösung.
- Herstellen der Verdünnungspuffer: 20 mL Verdünnungspufferkonzentrat mit 30 mL Aqua dest. verdünnen (1:2,5). Gut mischen!
- Rekonstituieren der Kalibratoren und Kontrollplasmen: Die Kalibratoren und Kontrollplasmen werden mit 0,5 mL Aqua dest. rekonstituiert und nach einer Rekonstitutionszeit von 15 min., 10 Sekunden gemischt (Probenmischer). Rekonstituierte Komponenten sind klar bis leicht trüb.
- Probenverdünnung:
 - Für die Bestimmung von NIEDRIGEN PAP KONZENTRATIONEN
Probenverdünnung 1:10
25 μ L Plasma + 225 μ L Verdünnungspuffer
 - Für die Bestimmung von HOHEN PAP KONZENTRATIONEN
Probenverdünnung 1:100 oder 1:1000
Vorverdünnung 1:10: 20 μ L Plasma + 180 μ L Verdünnungspuffer
1:100: 25 μ L Vorverdünnung + 225 μ L Verdünnungspuffer
1:1000: 10 μ L Vorverdünnung + 990 μ L Verdünnungspuffer
- Herstellen der Konjugatgebrauchslösung (1+50): 1 Volumenteil Konjugat mit 50 Volumenteilen Inkubationspuffer verdünnen.

Für 8 Testvertiefungen: 20 μ L Konjugat mit 1000 μ L Inkubationspuffer (=Probenverdünnungspuffer) mischen.

TESTVERFAHREN

PROBEN-INKUBATION (Hinweise 1,2)	Kalibratoren, Kontrollplasmen, verdünnte Proben in Testvertiefung pipettieren. Teststreifen mit Folie abdecken Bei 2...8°C inkubieren	100 μ L über Nacht
WASCHEN (Hinweise 1,3,4)	Waschpuffer	4 x 200 μ L
KONJUGAT-REAKTION (Hinweise 1,2)	Konjugatgebrauchslösung in Testvertiefung pipettieren. Teststreifen mit Folie abdecken Bei 37°C inkubieren	100 μ L 2 Stunden
WASCHEN (Hinweise 1,3,4)	Waschpuffer	4 x 200 μ L
SUBSTRAT-REAKTION (Hinweis 1,2)	Substratlösung in Testvertiefungen pipettieren; Teststreifen mit frischer Folie abdecken Bei Raumtemperatur inkubieren	100 μ L 20 Minuten
STOPPEN (Hinweis 1,2)	Stopplösung in Testvertiefungen pipettieren	100 μ L
MESSEN (Hinweis 5)	ELISA-Reader, 450nm	10 Sek. schütteln, Messung innerhalb von 10 Min.

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 Probenmischer
 - Durchführung von Doppelbestimmungen
 - Inkubation bei der korrekten Temperatur (RT: Raumtemperatur; 20 - 25°C)
 - Genaue Einhaltung von Pipettierreihenfolge und Zeittakt.
 - Die angegebene Zeit für die Probeninkubation, Konjugat- und Substratreaktion wird nach der Pipettierung der letzten Probe genommen. Inkubationszeiten sollten um nicht mehr als \pm 5% variiert werden.
 - Bei der Probeninkubation und Konjugatreaktion darf die Zeit für die Pipettierung der verdünnten Kalibratoren/Kontrollplasmen/Proben bzw. Konjugatlösung 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.
 - Teststreifen mit wasserfestem Stift markieren, falls sie während des Testes versehentlich aus der Halterung fallen sollten.
 - 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.

TESTEINSCHRÄNKUNGEN

Zitratplasmen ohne Inhibitor können nur bei Patienten ohne thrombolytischer Therapie verwendet werden. Andernfalls können PAP Komplexe ex vivo entstehen und führen dadurch zu falsch hohen PAP Werten

ANALYSENERGEBNISSE

BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

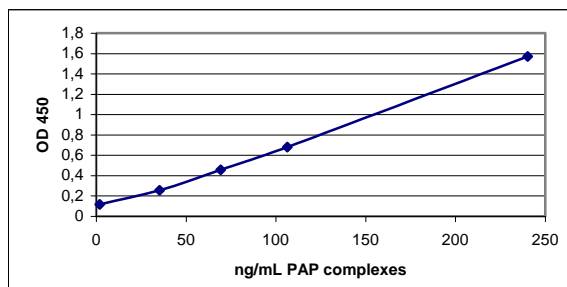
Erstellung der Bezugskurve: x-Achse: PAP Komplex Konzentration (ng/mL)
y-Achse: Extinktion bei 450 nm

Bezugskurve ist linear-linear. Werte mittels Punkt zu Punkt oder Cubic Spline miteinander verbinden.

Beurteilung der Bezugskurve:

- Die Extinktion des höchsten Kalibrators sollte zwischen 1,0 und 2,5 liegen
- Die Extinktion des niedrigsten Kalibrators sollte <0,1 sein.
- Die Extinktionsdifferenz dieser Kalibratoren sollte mindestens 1,0 sein.
- Die Auswertbarkeit des Tests kann anhand von in-Haus Kontrollen überprüft werden

Beispiel einer Standardkurve:



Konzentrationsbestimmung der Proben:

- Konzentrationen der Proben an der Bezugskurve ablesen
Nicht vergessen, das Ergebnis mit einem Verdünnungsfaktor von 10, 100 oder 1000 zu multiplizieren.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE/REFERENZBEREICH

Der Normalbereich für PAP Komplex Konzentrationen reicht von 0-514 ng/mL. Während lytischer Therapie weisen PAP-Konzentrationen größer 120 μ g/mL auf einen kompletten Verbrauch von α -2-Antiplasmin hin, was zu einer generalisierten Plasminämie führen kann.

STANDARDISIERUNG

Der Standard wurde gegen in vitro hergestellte PAP Komplexe aus gereinigten Komponenten kalibriert.

LITERATUR

- Hatley, M. Haumer, M.R. Griffiths, V. Carroll, B.R. Binder: Plasmin- α -2-antiplasmin complexes. In: ECAT Assay Procedures 2nd Revised edition; A Manual of Laboratory Techniques. Kluwer Academic Publishers; Editors: J. Jespersen, R.M. Bertina, F. Haverkate; pp.265-274, 1999
- V. Carroll, M. Griffith, M. Geiger, C. Merlo, M. Furlan, B. Lammle, B.R. Binder: Plasma Protein C Inhibitor is elevated in survivors of Myocardial Infarction. Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biol. Vol 17, No. 1/1997.
- E. Hatley, J. Wojta, K. Huber, B.R. Binder: Development and evaluation of ELISA systems for determination of plasmin- α -2-antiplasmin (PAP) complexes in plasma. Fibrinolysis Suppl., Abstract 152, 1986.