

Evidencias en patología respiratoria crítica

E. González Pérez-Yarza

Unidad de Neumología Infantil, Críticos y Urgencias. Hospital Aránzazu. San Sebastián.

(An Esp Pediatr 2001; 54 [Supl 2]: 37-40)

INTRODUCCIÓN

La patología respiratoria constituye el mayor porcentaje de ingresos en las unidades de cuidados intensivos pediátricos y la patología de mayor morbilidad en medicina intensiva. Dentro de la patología respiratoria, las enfermedades obstructivas son las más numerosas tanto en medicina crítica, como en urgencias o en atención primaria. A este grupo de enfermedades que limitan el flujo aéreo intrapulmonar secundario a una obstrucción intratorácica (asma y bronquiolitis aguda), se refieren los comentarios siguientes sobre tópicos habituales en el tratamiento de las mismas, en base a evidencias en medicina (tabla 1).

ASMA

Tratamiento de la crisis asmática con β_2 -agonistas mediante cámaras espaciadoras frente a nebulizadores. Las cámaras espaciadoras son como mínimo igual de eficaces que los nebulizadores. En niños, las cámaras espaciadoras tienen más ventajas que los nebulizadores¹.

Adición de la aminofilina intravenosa a los β_2 -agonistas en la crisis asmática. En las crisis asmáticas, el uso de aminofilina IV en adultos no produce broncodilatación adicional sobre la terapia con β_2 -agonistas inhalados. Los efectos adversos fueron superiores en el grupo con aminofilina. No se ha identificado ningún subgrupo que evidencie mayor eficacia de la aminofilina².

Glucocorticoides en las crisis asmáticas graves en pacientes hospitalizados. En adultos, los glucocorticoides sistémicos (GC) en dosis bajas, resultan igual de eficaces que a dosis medias o altas³.

Tratamiento precoz en urgencias de la crisis asmática con glucocorticoides sistémicos. La administración de GC (en adultos y en niños) durante la primera hora de atención de la crisis asmática en urgencias, disminuye los ingresos hospitalarios. El beneficio es mayor cuanto más graves son las crisis y cuando los pacientes no estaban tratados previamente con glucocorticoides inhalados (GCI)⁴.

Tratamiento precoz en urgencias de la crisis asmática con glucocorticoides inhalados. Los GCI, administrados en las crisis agudas, reducen las tasas de admisión

de los sujetos asmáticos no tratados con GC sistémicos a la vez. En niños, los GCI parecen ser al menos tan efectivos como los GC sistémicos (OR 0,5; IC 95% 0,24-1,06). Se precisan investigaciones que clarifiquen el efecto de los GCI añadidos a las GC sistémicos, las dosis óptimas, la frecuencia de las mismas y el tipo de GCI⁵.

β_2 -agonistas inhalados en asmáticos bajo ventilación mecánica. No hay datos de ensayos clínicos controlados que muestren evidencia a favor o en contra de los fármacos β_2 -agonistas inhalados en sujetos intubados y ventilados mecánicamente⁶.

Glucocorticoides y paralizantes musculares. Se han descrito miopatías y neuropatías graves en niños, secundarias a la asociación terapéutica de GC y paralizantes musculares⁷, como son el pancuronio y el vecuronio que tiene una estructura química análoga a los GC. El atracurio parece ser el paralizante muscular con mejor perfil de seguridad, hecho éste que debe ser confirmado. Las dosis recomendadas de atracurio, son las siguientes: dosis de choque, 0,3-0,4 mg/kg entre 1 mes y 2 años de edad, y 0,4-0,5 mg/kg para los mayores de 2 años; dosis de mantenimiento, 5-10 μ g/kg/min en bomba de perfusión continua y 0,08-0,1 mg/kg como dosis discontinua.

Anticolinérgicos. El posible beneficio de añadir anticolinérgicos al tratamiento estándar de la crisis asmática con GC y β_2 -agonistas es dudoso. En un ensayo clínico aleato-

TABLA 1. Grados de evidencia en medicina

Nivel I
RCT (o metaanálisis) con N suficiente
Nivel II
RCT con N insuficiente
Nivel III
Estudios controlados no-aleatorizados, caso-control, cohortes, series o transversales
Nivel IV
Opinión de autoridades, expertos, comités, consensos
Nivel V
Opinión personal

N: número de casos; RCT: ensayos clínicos controlados.

rizado, controlado (n = 434) en niños, los sujetos tratados con ipratropio tuvieron menos hospitalizaciones (27 frente a 36%)⁸. Otro estudio posterior, repite los mismos resultados⁹. Por lo tanto, es posible que se beneficien de esta asociación las crisis asmáticas graves con peor funcionalismo pulmonar (PEF inferior al 50% del teórico)¹⁰. De aquí, la recomendación de utilizar en las crisis graves, de modo precoz, ipratropio en dosis alta (500 µg/dosis) asociado al tratamiento estándar de la crisis asmática (CAT de la Universidad de Michigan, Mott Children's Hospital).

Sulfato magnésico (SO₄Mg). Hay numerosos estudios no controlados que sugieren que el SO₄Mg es eficaz en el tratamiento del estado asmático del niño y del adulto¹¹, ya que interfiere la contracción muscular mediada por el calcio, modificando la bomba Na⁺-K⁺.

Ha habido estudios prospectivos en adultos con N suficiente que no han demostrado los aspectos beneficiosos de esta terapia^{12,13}. Sin embargo, en niños hay un ensayo clínico inicial controlado con placebo¹⁴ que muestra que el SO₄Mg produce una mejoría sustancial en la función pulmonar en las dos primeras horas después de su administración IV (en solución al 1 o al 3%, dosis 30-70 mg/kg, dosis máxima 2 g, en perfusión intravenosa superior a 20 min). Estos resultados han sido confirmados en otro ensayo clínico (n = 30) en crisis asmáticas moderadas-graves, mejorando la función pulmonar inmediatamente después de la administración de SO₄Mg¹⁵. Una revisión reciente de esta terapia (basada en los dos ensayos clínicos realizados en niños y en cinco más en adultos)¹⁶, concluye que no hay evidencia suficiente para indicar el tratamiento rutinario con SO₄Mg en las crisis asmáticas atendidas en los servicios de urgencia, afirmando de nuevo que parece ser un tratamiento seguro y eficaz en las crisis graves en cuidados intensivos.

Helio. El helio es un gas de menor densidad que el aire, produciendo una menor resistencia al flujo aéreo intrapulmonar y a un menor trabajo respiratorio. Su uso terapéutico en el asma se remonta a 1935. Las mezclas 70-80% de helio y 30-20% de oxígeno se administran a través de mascarilla facial o incorporadas al circuito de gases del respirador bajo ventilación mecánica. La respuesta al helio, cuando es efectiva, es rápida (15-45 min). Dos ensayos clínicos doble-ciego en niños han dado resultados diferentes, mostrando en uno de ellos mejoría de la función pulmonar y del índice de disnea¹⁷, y ninguna mejoría en otro¹⁸. Algunos autores consideran al helio como una terapia coadyuvante en el estado asmático, mientras se produce la respuesta terapéutica de los GC sistémicos.

BRONQUIOLITIS

Broncodilatadores

La medicación broncodilatadora en líneas generales produce un efecto modesto en la fase aguda de la enfermedad y sólo sobre la variable "escala clínica". Este mínimo be-

neficio (RR 0,76; IC 95% -0,54; -0,11) debe valorarse en relación al coste de la medicación¹⁹.

Un estudio aleatorizado, controlado, doble-ciego, cruzado, ha comparado la eficacia de los agonistas alfa y beta nebulizados²⁰ en lactantes de cuatro meses de edad media (n = 24), diagnosticados de un primer episodio de bronquiolitis. Se administró salbutamol (0,03 ml/kg en solución al 0,5%) o adrenalina racémica (0,1 ml/kg en solución al 2,25%) mediante un nebulizador de chorro (Raindrop®, Puritan-Bennet, Kansas). A los 20 minutos de la intervención, los resultados observados mostraron que la adrenalina racémica fue superior al salbutamol, tanto en la mejoría de la escala clínica de síntomas como en la disminución de las resistencias respiratorias. Otros autores también han confirmado estos resultados, mostrando la mayor eficacia de la L-adrenalina frente al salbutamol nebulizado en la bronquiolitis aguda²¹. Los ensayos clínicos controlados que han comparado adrenalina subcutánea²² o adrenalina racémica nebulizada²³ frente a placebo, muestran una importante mejoría en la oxigenación y en los signos clínicos en el grupo de intervención activa. Como conclusión de estos estudios, hay que señalar que hay evidencia suficiente para considerar que la adrenalina es mejor broncodilatador que el salbutamol o el placebo²⁴.

La terapia con drogas anticolinérgicas ha sido objeto de numerosas revisiones²⁵⁻²⁸. Chowdhury et al²⁹ estudiaron el efecto de la medicación broncodilatadora (salbutamol y bromuro de ipratropio, aislados o asociados), en niños entre 23 días y 11 meses de edad (n = 89) mediante un ensayo aleatorizado y controlado con placebo, concluyendo que cualquiera de ellas no es superior al placebo. Diversas revisiones³⁰ tampoco han logrado identificar un claro beneficio de esta terapia ni de forma aislada ni asociada a salbutamol³¹. Sin embargo, hay algunas situaciones especiales en las que el bromuro de ipratropio puede tener alguna indicación dentro del tratamiento de la bronquiolitis aguda, como son las cardiopatías congénitas (dilataciones de ventrículo izquierdo y taquiarritmias) en las que es preferible evitar la estimulación de los receptores β₂ por sus agonistas, y la miastenia grave, en donde los agonistas de los receptores muscarínicos provocan broncospasmo.

Glucocorticoides

Los glucocorticoides han mostrado poca eficacia en el tratamiento de la bronquiolitis, excepto cuando en las series estudiadas se han incluido otros síndromes de obstrucción bronquial distintos de la bronquiolitis³².

Diversos ensayos clínicos controlados y aleatorizados han valorado críticamente los glucocorticoides en la bronquiolitis:

– Ensayo clínico doble-ciego con 44 niños de 1,5-18 meses de edad, con bronquiolitis. Compara prednisolona IM (dosis inicial 2,5 mg/kg y 2,5 mg/kg/día en dos dosis durante 2 días más). La medida principal del efecto fue una

escala de síntomas (entre 0 y 27). No se observaron diferencias entre ambos grupos³³.

– Ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, en niños hospitalizados por bronquiolitis (n = 297), menores de 30 meses. El 18% de la serie había tenido algún episodio previo de sibilancias. El estudio compara betametasona con placebo, a dosis de 1 mg/5 lb de peso como dosis inicial, siguiendo con 0,5 mg/5 lb IM cada 12 h durante 3 días. La medida principal el efecto fue la duración de la estancia hospitalaria, la clínica y otras intervenciones terapéuticas. No se apreciaron diferencias significativas entre ambos grupos, excepto para la fiebre³⁴.

– Ensayo clínico doble-ciego en lactantes (n = 50) entre 1,5 y 11 meses ingresados en el hospital por bronquiolitis aguda. Se utilizó hidrocortisona o placebo (1 mg/kg/hora IV), hasta alcanzar la mejoría clínica en base a una escala de síntomas (entre 0 y 12 puntos). En ese momento se pasó a prednisona VO 2 mg/kg/día o placebo hasta el alta. Todos los casos recibieron salbutamol 2,5 mg cada 6 h hasta el alta. La medida principal del efecto fue la mejoría en la escala de síntomas y la duración de la hospitalización. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre ambos tratamientos³⁵.

– Ensayo clínico, doble-ciego, placebo control, en niños menores de dos años (n = 54) con bronquiolitis VRS (+). El tratamiento se inició dentro de las 24 primeras horas del ingreso, con prednisolona (1 mg/kg/día). Los resultados muestran una reducción significativa en la duración del ingreso en los niños que precisaron ventilación mecánica. En los no ventilados, los síntomas mejoraron antes en los tratados con prednisolona³⁶.

– Ensayo clínico, doble-ciego, placebo control, en niños (n = 147) menores de 2 años hospitalizados por infección por VRS, estudiando prednisolona (2 mg/kg/día, 5 días) frente a placebo. No se observó efecto alguno durante la fase de estado, el primer mes y el primer año de seguimiento³⁷.

– Ensayo clínico, doble-ciego, placebo control, en lactantes (n = 161) con un primer episodio de bronquiolitis VRS (+), tratados con budesonida nebulizada (1 mg/12 h) o placebo, durante el ingreso y 2 semanas más después del alta hospitalaria. No se observó ningún efecto de los GCI durante el período estudiado.

En resumen, los GC sistémicos y los GCI no son efectivos para el tratamiento de la bronquiolitis en lactantes sanos, aun existiendo en algunas ocasiones pequeñas diferencias en cuanto a significación estadística³⁸. Basándose en un ensayo clínico de muestra pequeña, el tratamiento de la bronquiolitis grave con prednisolona oral (1 mg/kg/24 h) en sujetos bajo ventilación mecánica disminuye la estancia hospitalaria una media de 6 días (IC 95% 1,8-10,2). En los casos de bronquiolitis grave en ventilación espontánea y en aquellos que se conozca o se sospeche una enfermedad crónica, se desconoce la eficacia de los glucocorticoides.

Ribavirina

Las publicaciones iniciales con ribavirina, un análogo de la guanosina con actividad *in vitro* frente al VRS, señalaban un efecto beneficioso de la misma en el manejo de la bronquiolitis. La ribavirina (RBV) ha mostrado una adecuada actividad *in vitro* frente al VRS, un correcto perfil de seguridad clínica y funcional a largo plazo³⁹, pero con unos resultados insuficientes *in vivo*². Algunos estudios han expuesto una mejoría en las variables fiebre, saturación de O₂^{40,41} y duración de la ventilación mecánica⁴². La crítica a los mismos incluye que las series son cortas y la utilización de agua nebulizada como placebo. Otros trabajos posteriores (cohortes, prospectivos) concluyen que no hay ningún beneficio clínico derivado de la utilización de RBV en los lactantes bajo ventilación mecánica, ni tampoco sobre la duración de la misma, estancia en UCIP ni días de hospitalización^{43,44}. La Academia Americana de Pediatría recomienda todavía utilizar RBV en las patologías asociadas a bronquiolitis como son la cardiopatía congénita, enfermedad pulmonar, inmunodeficiencia y ventilación mecánica⁴⁵.

En esta última circunstancia, en un estudio aleatorizado controlado con placebo⁴⁶ también se concluye afirmando que la RBV no modifica el tiempo de ventilación mecánica ni la evolución de la enfermedad en los lactantes con bronquiolitis, insuficiencia respiratoria aguda y ventilación mecánica, sin enfermedad subyacente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cates CJ, Rowe BH. Holding chambers versus nebulisers for beta-agonist treatment of acute asthma (Cochrane Review). En: The Cochrane Library, Issue 4, 2000. Oxford: Update Software.
2. Parameswaran K, Belda J, Rowe BH. Addition of intravenous aminophylline to beta-2-agonists in adults with acute asthma (Cochrane Review). En: The Cochrane Library, Issue 4, 2000. Oxford: Update Software.
3. Manser R, Reid D, Abramson M. Corticosteroids for acute severe asthma in hospitalised patients. (Cochrane Review). En: The Cochrane Library, Issue 4, 2000. Oxford: Update Software.
4. Rowe BH, Spooner C, Ducharme FM, Bretzlaff JA, Bota GW. Early emergency department treatment of acute asthma with systemic corticosteroids (Cochrane Review). En: The Cochrane Library, Issue 4, 2000. Oxford: Update Software.
5. Edmonds ML, Camargo CA Jr, Pollack CV Jr, Rowe BH. Early use of inhaled corticosteroids in the emergency department treatment of acute asthma (Cochrane Review). En: The Cochrane Library, Issue 4, 2000. Oxford: Update Software.
6. Jones A, Rowe B, Peters J, Camargo C, Hammarquist C. Inhaled beta-agonists for asthma in mechanically ventilated patients (Cochrane Review). En: The Cochrane Library, Issue 4, 2000. Oxford: Update Software.
7. Margolis BD, Khachikian D, Friedman Y, Garrad C. Prolonged reversible quadriplegia in mechanically ventilated patients who received long-term infusions of vecuronium. *Chest* 1991; 100:877.
8. Qureshi F, Pestian J, Davis P, Zaritsky A. Effect of nebulized ipratropium on the hospitalization rates of children with asthma. *N Engl J Med* 1998; 339: 1030-1035.
9. Zorc J, Pusic M, Ogborn J, Lebet R, Duggan A. Ipratropium bromide added to asthma treatment in the pediatric emergency department. *Pediatrics* 1999; 103: 747-752.

10. Plotnick LH, Ducharme FM. Should inhaled anticholinergics be added to beta-2-agonists for treating acute childhood and adolescent asthma? A systematic review. *BMJ* 1998; 317:971.
11. Pabon H, Monem G, Kissoon N. Safety and efficacy of magnesium sulfate infusion in children with status asthmaticus. *Pediatr Emerg Care* 1994; 10: 200-203.
12. Green SM, Rothrock SG. Intravenous magnesium for acute asthma: failure to decrease emergency treatment during or need for hospitalization. *Ann Emerg Med* 1992; 21: 260-265.
13. Tiffany BR, Berk W, Todd IK, White S. Magnesium bolus or infusion fails to improve expiratory flow in acute asthma exacerbations. *Chest* 1993; 104: 831-834.
14. Ciarallo L, Sauer AH, Shannon MW. Intravenous magnesium therapy for moderate to severe pediatric asthma: results of a randomized, placebo-controlled trial. *J Pediatr* 1996; 129: 809-814.
15. Ciarallo L, Brousseau D, Reinert S. Higher-dose intravenous magnesium therapy for children with moderate to severe acute asthma. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2000; 979-983.
16. Rowe BH, Bretzlaff JA, Bourdon C, Bota GW, Camargo CA Jr. Magnesium sulfate for treating exacerbations of acute asthma in the emergency department (Cochrane Review). En: *The Cochrane Library*, Issue 4, 2000. Oxford: Update Software.
17. Kudukis TM, Manthous CA, Schmidt GA, Hall JB, Wylam ME. Inhaled helium-oxygen revisited: effect of inhaled helium-oxygen during the treatment of status asthmaticus in children. *J Pediatr* 1997; 130: 217-224.
18. Carter ER, Webb CR, Moffitt DR. Evaluation of heliox in children hospitalized with acute severe asthma: a randomized crossover trial. *Chest* 1996; 109: 1256-1261.
19. Kellner JD, Ohlsson A, Gadomski AM, Wang EEL. Bronchodilators for bronchiolitis (Cochrane Review). En: *The Cochrane Library*, Issue 4, 2000. Oxford: Update Software.
20. Sanchez I, De Koster J, Powell RE, Wolstein R, Chernick V. Effect of racemic epinephrine and salbutamol on clinical score and pulmonary mechanics in infants with bronchiolitis. *J Pediatr* 1993; 122: 145-151.
21. Menon K, Sutcliffe T, Klassen TP. A randomized trial comparing the efficacy of epinephrine to salbutamol in acute bronchiolitis. *J Pediatr* 1995; 126: 1004-1007.
22. Lowell DI, Lister G, Von Koss H, Mc Carthy P. Wheezing in infants: the response to epinephrine. *Pediatrics* 1987; 79: 939-945.
23. Kristjánsson S, Lodrup Carlson KC, Wennergren G, Strannegard I-L, Carlsen K-H. Nebulized racemic adrenaline in the treatment of acute bronchiolitis in infants and toddlers. *Arch Dis Child* 1993; 69: 650-654.
24. Klassen TP. Recent advances in the treatment of bronchiolitis and laryngitis. *Pediatr Clin N Amer* 1997; 44: 249-261.
25. González Pérez-Yarza E, Garmendia A, Callén M, Mintegui J. Utilización de broncodilatadores anticolinérgicos en Pediatría. *Arch Bronconeumol* 1997; 33: 27-33.
26. Stokes GM, Milner AD, Hodges IGC, Henry RL, Elphick MC. Nebulised therapy in acute severe bronchiolitis in infancy. *Arch Dis Child* 1983; 58: 279-282.
27. Schuh S, Johnson D, Canny G, Reisman J, Shields M, Kovesi T et al. Efficacy of adding nebulized ipratropium bromide to nebulized albuterol therapy in acute bronchiolitis. *Pediatr* 1992; 90: 920-923.
28. Lugo RA, Nahata MC. Therapy review. Pathogenesis and treatment of bronchiolitis. *Clin Pharmacy* 1993; 12: 95-116.
29. Chowdhury D, Al Howasi M, Khalil M, Al-Frayh AS, Chowdhury S, Ramia S. The role of bronchodilators in the management of bronchiolitis: a clinical trial. *Ann Tropical Paediatr* 1995; 15: 77-84.
30. Mark EL, Matthew K. Anti-cholinergic therapy for treatment of wheeze in children under the age of two years (Cochrane Review). En: *The Cochrane Library*. Oxford: Update software 4, 1998.
31. Wang EEL, Milner R, Allen U, Maj H. Bronchodilators for treatment of mild bronchiolitis: a factorial randomised trial. *Arch Dis Child* 1992; 67: 289-293.
32. Tal A, Babilski C, Yohai D, Bearman JE, Gorodischer R, Mosses SW. Dexamethasone and salbutamol in the treatment of acute wheezing in infants. *Pediatrics* 1983; 71: 13-18.
33. Dabbous IA, Tkachyk JS, Stamm SJ. A double blind study on the effects of corticosteroids in the treatment of bronchiolitis. *Pediatrics* 1966; 37: 477-484.
34. Leer JA, Green JL, Heimlich EM, Hyde JS, Mofett HL, Young GA et al. Corticosteroids treatment in bronchiolitis: a controlled collaborative study in 297 infants and children. *Am J Dis Child* 1969; 117: 495-503.
35. Springer C, Bar-Yishay E, Uwayyed K, Avital A, Vilozni D, Gossfrey S. Corticosteroids do not affect the clinical or physiological status of infants with bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol* 1990; 9: 181-185.
36. Van Woelsen JBM, Wolfs TFW, van Aalderen WMC, Brand PL, Kimpen JL. Randomised double blind placebo controlled trial of prednisolone in children admitted to hospital with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Thorax* 1997; 52: 634-637.
37. Bulow SM, Nir M, Levin E, Friis B, Thomsen LL, Nielsen JE et al. Prednisolone treatment of respiratory syncytial virus infection: a randomized controlled trial of 147 infants. *Pediatrics* 1999; 104: E77.
38. Garrison MM, Christakis DA, Harvey E, Cummings P, Davis RL. Systemic corticosteroids in infant bronchiolitis: a meta-analysis. *Pediatrics* 2000; 105: E44.
39. Rodriguez WJ, Arrobio J, Fink R, Kim HW, Milburn C. Prospective follow-up and pulmonary functions from a placebo-controlled randomized trial of ribavirin therapy in respiratory syncytial virus bronchiolitis. Ribavirin Study Group. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999; 153: 469-474.
40. Hall C, McBride J, Walsh E, Bell DM, Gala CL, Hildret S et al. Aerosolized ribavirin treatment of infants with respiratory syncytial virus infection. *N Engl J Med* 1983; 308: 1443-1447.
41. Rodriguez W, Kim H, Brandt C, Fink RJ, Getson PR, Arrobio J et al. Aerosolized ribavirin in the treatment of patients with respiratory syncytial virus disease. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6: 159-163.
42. Smith D, Frankel L, Mathers L, Tang AT, Ariagno RL, Prober CG. A controlled trial of aerosolized ribavirin in infants receiving mechanical ventilation for severe respiratory syncytial virus infection. *N Engl J Med* 1991; 325: 24-29.
43. Meert K, Sarnaik A, Gelmini M, Lieh-Lai MW. Aerosolized ribavirin in mechanically ventilated children with respiratory syncytial virus lower respiratory tract disease: a prospective, double blind, randomized trial. *Crit Care Med* 1994; 22: 566-572.
44. Moler F, Steinhart C, Ohmit S, Stidham GL. Effectiveness of ribavirin in otherwise well infants with respiratory syncytial virus-associated respiratory failure. *J Pediatr* 1996; 128: 422-428.
45. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases. Reassessment of the indications for ribavirin therapy in respiratory syncytial virus infections. *Pediatrics* 1996; 97: 137-140.
46. Guerguerian AM, Gauthier M, Lebel MH, Farrell CA, Lacroix J. Ribavirin in ventilated respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 829-834.