

## **Efektivitas Prosedur Mencuci Luka Pasca Operasi Elektif Ortopedi Menggunakan Campuran Natrium Klorida 0,9% dan Gentamicin Sulfat dalam Mencegah Infeksi Daerah Operasi di Rumah Sakit Umum Daerah dr. Zainoel Abidin Tahun 2018**

**Safrizal Rahman<sup>1\*</sup>, Mirnasari Amirsyah<sup>2</sup>, Rovy Pratama<sup>3</sup>**

1. Bagian/KSM Bedah Ortopedi Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala/Rumah Sakit Umum Daerah dr. Zainoel Abidin,
2. Bagian/KSM Bedah Plastik Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala/Rumah Sakit Umum Daerah dr. Zainoel Abidin,
3. Unit Penelitian Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh – Indonesia

\*E-mail: rizal.rhmn@gmail.com

### **Abstrak**

Bedah elektif merupakan jenis pembedahan yang dapat dilakukan penundaan atau perencanaan lebih lanjut dengan tidak membahayakan nyawa pasien. Setiap tindakan pembedahan atau operasi sekecil apapun dapat menimbulkan risiko infeksi. Infeksi nosokomial masih menjadi masalah global hingga saat ini dengan morbiditas, mortalitas yang tinggi dan menimbulkan waktu perawatan lebih lama dan biaya yang besar. Kontaminasi mikroba di tempat operasi merupakan faktor penting dalam kejadian infeksi daerah operasi (IDO). Prosedur aseptis merupakan prinsip bedah untuk mempertahankan keadaan bebas kuman untuk mencegah IDO. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas Efektivitas Prosedur Irigasi Luka Pasca Operasi Elektif Ortopedi Menggunakan Campuran Natrium Klorida 0,9% dan Gentamicin Sulfat untuk Mencegah Infeksi Daerah Operasi Di RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh. Penelitian ini merupakan penelitian uji klinis (clinical trial) dengan desain paralel. Subjek penelitian yang terlibat dalam penelitian ini berjumlah 96 orang yang terbagi kedalam tiga kelompok: Kelompok NaCl 0,9% (Kelompok A), Kelompok Gentamicin Sulfat 80 mg (Kelompok B), dan Kelompok Gentamicin Sulfat 160 mg (Kelompok C) dengan jumlah subjek pada masing – masing kelompok adalah 32 orang. Data yang diperoleh akan dianalisa menggunakan uji F (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%. Kelompok A memiliki Skor IDO:  $3,34 \pm 1,49$ , kelompok B:  $2,31 \pm 1,12$  dan kelompok C:  $2,63 \pm 1,62$ . Uji komparatif antar ketiganya menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p = 0,009$ ). Perbandingan efektivitas Kelompok B dan Kelompok C dalam mencegah IDO tidak secara statistik tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,281$ ). Prosedur irigasi luka pasca operasi elektif ortopedi menggunakan *Gentamicin Sulfat* 80 mg efektif mencegah terjadinya IDO dibandingkan dengan pencucian luka standar menggunakan NaCl 0,9%.

Kata kunci: *Luka Operasi, Gentamicin Sulfat, Infeksi Daerah Operasi*

### **1. Pendahuluan**

Setiap tindakan pembedahan atau operasi sekecil apapun dapat menimbulkan risiko infeksi dengan berbagai keluhan dan gejala, seperti nyeri, demam, mual, muntah dan sebagainya. Infeksi nosokomial masih menjadi masalah global hingga saat ini dengan morbiditas, mortalitas yang tinggi dan menimbulkan waktu perawatan lebih lama dan biaya yang besar. Di Amerika Serikat pada tahun 1999-2005 setidaknya dua juta pasien per tahun terkena infeksi nosokomial dengan kematian lebih dari 90.000 pasien dan menghabiskan biaya lebih dari \$6 milyar per tahun. Setiap tahunnya 80.000 pasien di Intensive Care Unit (ICU) terkena infeksi melalui darah dan

meningkatkan biaya 40.000\$ per pasiennya. (Dale et al., 2004, Lee et al., 2006) Menurut Central for Disease Control (CDC) sekitar 5% pasien memiliki gejala klinis infeksi nosokomial akut, 8% kronis, dan 70 % post-operatif. Dengan sumber infeksi yang tersering diantaranya adalah infeksi saluran kemih, infeksi saluran napas bawah, infeksi daerah operasi, dan septikemia primer. World Health Organization (WHO) melaporkan prevalensi infeksi nosokomial bervariasi antara 3%-21%, dan infeksi daerah operasi mencapai 5%-31% dari keseluruhan kejadian infeksi nosokomial. (de Lissovoy et al., 2009)

Menurut data WHO angka kejadian infeksi daerah operasi di dunia sekitar 0,5-15%. Di Amerika Serikat pada tahun 2006 sampai 2008 tercatat 16.147 kasus infeksi daerah operasi dari 849.659 tindakan operasi atau sekitar 1,9%. Berdasarkan survei yang dilakukan oleh Perdalim Jaya dan Rumah Sakit Penyakit Infeksi Prof. Dr. Sulianti Saroso Jakarta terhadap sebelas rumah sakit Jakarta pada tahun 2003, didapatkan angka kejadian infeksi nosokomial akibat infeksi daerah operasi 18,9%. Penelitian yang dilakukan di sebelas rumah sakit DKI Jakarta selama tahun 2004 menunjukkan bahwa 9,8 % pasien rawat inap mendapat infeksi yang baru selama dirawat dan mengakibatkan 88.000 pasien di dunia meninggal setiap tahunnya.

Kontaminasi mikroba di tempat operasi merupakan faktor penting dalam kejadian infeksi daerah operasi (IDO). Sebagian besar mikroorganisme masuk ke dalam luka yang ditularkan oleh tim bedah atau pasien. Bakteri masuk ke lapangan operasi melalui salah satu reservoir di atas pada waktu pembedahan, hingga terjadi infeksi saat operasi. (de Lissovoy et al., 2009, Anderson et al., 2014)

Menurut hasil penelitian di bangsal bedah RSUP DR. M. Djamil Padang, maka dapat diperoleh tujuh jenis bakteri penyebab IDO, yaitu *Klebsiella pneumoniae* (40%), *Staphylococcus aureus* (13,3%), *Enterobacter agglomerans* (13,3%), *Escherichia coli* (13,3%), *S. epidermidis* (6,7%), *Proteus vulgaris* (6,7%), dan *Pseudomonas aeruginosa* (6,7%). Hasil penelitian di Rumah Sakit Umum Daerah dr. Zainoel Abidin pada tahun 2012 didapatkan IDO disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* (26,32%), *Klebsiella sp.* (26,32%), *Staphylococcus aureus* (15,79%), *P. aeruginosa* (15,79%), *Proteus sp.* (10,53%), dan *E. coli* (5,26%). Penggunaan antibiotik sebelum dan sesudah operasi menjadi salah satu langkah untuk mencegah IDO. Gentamicin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang mempunyai spektrum yang luas terhadap bakteri aerob dan fakultatif basil gram negatif. *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, dan *Klebsiella sp.*, *Morganella sp.*, *Citrobacter sp.*, *Serratia sp.* dan *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.* dan *Haemophilus influenzae*. (Bratzler et al., 2013, Kaye and Pogue, 2015)

Prosedur aseptis merupakan prinsip bedah untuk mempertahankan keadaan bebas kuman untuk mencegah IDO. Pencegahan IDO bertujuan untuk meminimalkan mikroorganisme yang mencemari daerah operasi. Proses pencegahan IDO harus dilakukan pada fase pre-operative, intra-operative, dan post-operative. Pada fase intra-operative, prosedur penutupan luka (wound closure) menjadi salah satu penentu faktor penentu terjadinya IDO. (de Jonge et al., 2017) Sebelum dilakukan penutupan luka pasca pembedahan, terlebih dahulu dilakukan irigasi luka menggunakan cairan fisiologis berupa natrium klorida 0,9%. Berbeda dari prosedur cuci luka standar, pada penelitian ini peneliti mencoba menilai efektivitas prosedur irigasi luka pasca operasi elektif ortopedi menggunakan campuran natrium klorida 0,9% dan gentamicin sulfat dalam mencegah infeksi daerah operasi di RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh.

## 2. Metodologi

Penelitian ini merupakan penelitian uji klinis (clinical trials) desain paralel dengan matching. Uji klinis adalah penelitian eksperimental terencana yang dilakukan pada manusia. Peneliti pada penelitian uji klinis akan memberikan perlakuan atau intervensi pada peserta atau subjek penelitian, lalu efek dari perlakuan yang diberikan tersebut diukur dan dianalisis.

### 2.1. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah semua pasien yang akan melakukan bedah elektif Ortopedi di RSUD Dr. Zainoel Abidin Banda Aceh. Sampel penelitian ini adalah seluruh populasi yang memenuhi kriteria sampel. Kriteria sampel dapat digolongkan menjadi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

#### a) Kriteria Inklusi

1. Pasien yang akan menjalani bedah elektif Ortopedi dan bersedia diikutsertakan dalam penelitian.
2. Usia penderita antara 18-50 tahun.

#### b) Kriteria Eksklusi

1. Pasien dengan infeksi yang akan dilakukan tindakan operasi segera.
2. Pasien yang memiliki penyulit seperti Diabetes Mellitus dan gangguan koagulasi
3. Penderita dengan alergi *gentamicine sulfat*

## 3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini sudah dilakukan selama lima bulan sejak bulan Mei hingga September 2018 terhadap penderita yang akan menjalani operasi elektif Ortopedi di Rumah Sakit Umum Daerah dr. Zainoel Abidin Banda Aceh. Jumlah subjek penelitian yang terkumpul berjumlah 96 orang yang terbagi menjadi tiga kelompok, dimana masing-masing kelompok berjumlah 32 subjek penelitian.

Tabel 1 dibawah menunjukkan distribusi jenis kelamin dan skor IDO masing – masing kelompok penelitian. Jenis kelamin laki-laki dominan diseleruruh kelompok dengan persentase masing – masing secara berurutan 56,3%, 56,3%, dan 53,1%. Ditinjau dari skor IDO, subjek pada kelompok A paling banyak mengalami IDO yaitu berjumlah 15 orang diikuti dengan kelompok C dan kelompok B secara berurutan. Setiap kelompok penelitian memiliki rata-rata usia yang tidak jauh berbeda satu sama lain, yaitu  $32,81 \pm 9,67$  tahun (Kelompok A),  $33,28 \pm 9,16$  tahun (kelompok B), dan  $32,66 \pm 9,68$  tahun (kelompok C).

Berdasarkan tabel 5.2 distribusi pengukuran skor IDO, kelompok A memiliki rerata skor IDO tertinggi yaitu  $3,34 \pm 1,49$  dan kelompok B memiliki skor IDO paling rendah dengan rerata  $2,31 \pm 1,12$ . Hasil uji normalitas data pada tabel 5.3 menggunakan uji Shapiro-Wilk, didapatkan hanya kelompok A yang berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), sehingga data harus dianalisa menggunakan uji alternatif *Kruskal-Wallis* diikuti dengan uji *Post Hoc Mann Whitney*. Hasil uji komparatif numerik yang disajikan pada tabel 5.4 menggunakan uji *nonparametric Kruskal-Wallis*. Oleh karena nilai  $p < 0,05$ , paling tidak terdapat perbedaan skor IDO antara dua kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan, maka selanjutnya perlu dilakukan uji *post hoc*.

**Tabel 1** Data demografi penelitian

Karakteristik Subjek	Kelompok A (n=32)		Kelompok B (n=32)		Kelompok C (n=32)	
	f	%	f	%	f	%
Jenis Kelamin						
Laki – laki	18	56,3 %	18	56,3 %	17	53,1 %
Perempuan	14	43,8 %	14	43,8 %	15	46,9 %
Skor IDO						
Skor 1	4	12,5 %	7	21,9 %	4	12,5 %
Skor 2	6	18,8 %	14	41,8 %	14	43,8 %
Skor 3	7	21,9 %	7	21,9 %	8	25 %
Skor 4	8	25 %	3	9,4 %	3	9,4 %
Skor 5	4	12,5 %	-	-	2	6,3 %
Skor 6	3	3,1 %	1	3,1 %	1	3,1 %

**Kelompok A:** NaCl 0,9%, **Kelompok B:** NaCl 0,9% + Gentamicin Sulfate 80 mg, **Kelompok C:** NaCl 0,9% + Gentamicin Sulfate 160 mg

**Tabel 2** Distribusi pengukuran skor IDO masing – masing kelompok

Skor IDO	Rerata ± SD	Median	Rentang	
			Minimum	Maksimum
Kelompok A	3,34 ± 1,49	3	1	6
Kelompok B	2,31 ± 1,12	2	1	6
Kelompok C	2,63 ± 1,62	2	1	6

**Kelompok A:** NaCl 0,9%, **Kelompok B:** NaCl 0,9% + Gentamicin Sulfate 80 mg, **Kelompok C:** NaCl 0,9% + Gentamicin Sulfate 160 mg

**Tabel 3** Uji normalitas data

Skor IDO	Jumlah	Nilai p*
Kelompok A	32	0,060
Kelompok B	32	0,000
Kelompok C	32	0,001

\*Shapiro-Wilk

**Tabel 4** Uji komparatif numerik masing-masing kelompok

Kelompok Penelitian	Skor IDO	Nilai p*
Kelompok A	3,34 (1 – 6)	0,009
Kelompok B	2,31 (1 – 6)	
Kelompok C	2,63 (1 – 6)	

\*Uji Kruskal-Wallis

**Tabel 5** Uji *post hoc* kelompok A dan kelompok B (AB)

Kelompok Penelitian	N	Rerata ± SD	Nilai p*
Kelompok A	32	3,34 ± 1,49	0,003
Kelompok B	32	2,31 ± 1,12	

\*Mann-Whitney

**Tabel 6** Uji *post hoc* kelompok A dan kelompok C (AC)

Kelompok Penelitian	N	Rerata ± SD	Nilai p*
Kelompok A	32	3,34 ± 1,49	0,038
Kelompok C	32	2,63 ± 1,62	

\*Mann-Whitney

**Tabel 7** Uji *post hoc* kelompok B dan kelompok C (BC)

Kelompok Penelitian	N	Rerata ± SD	Nilai p*
Kelompok B	32	2,31 ± 1,12	0,281
Kelompok C	32	2,63 ± 1,62	

\*Mann-Whitney

Ditinjau berdasarkan uji *post hoc Mann-Whitney* diatas, secara statistik skor IDO kelompok AB dan kelompok AC memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai kemaknaan masing-masing secara berurutan 0,003 dan 0,038. Berbeda dengan kedua kelompok tersebut, skor IDO kelompok BC tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan penggunaan *Gentamicin Sulfate* 160 mg tidak lebih baik dalam mencegah IDO dibandingkan dosis 80 mg.

Infeksi daerah operasi (IDO) merupakan komplikasi tindakan operasi yang menjadi permasalahan mayor bidang kesehatan berkaitan dengan infeksi. (Magill et al., 2014, Allegranzi et al., 2011) Di negara berkembang, 1 dari 10 tindakan pembedahan mengalami IDO.(Allegranzi et al., 2011) Kondisi ini akan meningkatkan morbiditas terhadap pasien dan memperlama masa rawatan dirumah sakit. IDO memperpanjang masa rawatan di rumah sakit hingga 1 minggu dan meningkatkan resiko kematian 2 hingga 11 kali lipat.(de Jonge et al., 2017)

Terdapat berbagai faktor yang berkaitan dengan kejadian IDO, sehingga banyak program pencegahan (profilaksis) ditujukan untuk mengatasi hal tersebut. Salah satu tindakan profilaksis yang dapat dilakukan adalah dengan irigasi luka intra-operatif (*prophylactic intra-operative wound irrigation*). Prosedur ini termasuk intervensi sederhana dengan hanya mengaliri cairan pada permukaan luka terbuka. Irigasi luka intra-operatif dapat menghilangkan dan mendilusi cairan tubuh, bakteri, dan debris seluler serta dapat memberikan efek bakterisidal jika ditambahkan dengan antibiotik atau antiseptik.(Pivot et al., 2011, de Jonge et al., 2017)

*Gentamicin Sulfate* adalah salah satu antibiotik yang dapat digunakan untuk tindakan profilaksis irigasi luka intra-operatif. Gentamicin terbukti aman dan tidak menimbulkan efek samping buruk terhadap pasien.(Dineen et al., 2015) Seperti halnya penelitian ini, irigasi NaCl 0,9% + Gentamicin sulfate 80 mg dan 160 mg efektif mencegah terjadinya IDO pada pasien bedah elektif ortopedi di RSUDZA dibandingkan dengan penggunaan NaCl 0,9% saja.

Gentamicin merupakan prototip golongan aminoglikosida. Aminoglikosida adalah sekelompok obat-obatan bakterisid yang berasal dari berbagai spesies *Streptomyces* dan mempunyai sifat kimiawi, antimikroba, farmakologi dan efek toksik yang sama. Aminoglikosida adalah salah satu antibiotik pilihan untuk menangani infeksi serius. Penggunaan antibiotik ini diindikasikan karena mempunyai spektrum luas terutama terhadap infeksi kuman aerob gram negatif, dan berefek sinergis terhadap gram positif bila dikombinasikan dengan antibiotik lain (misalnya  $\beta$ -laktam).(Nguyen et al., 2016, Sanghavi, 2016)

Semua golongan aminoglikosida mempunyai sifat farmakokinetik yang hampir sama. 15–30 menit paska pemberian intravena mengalami distribusi ke ruang ekstraseluler dan konsentrasi puncak dalam plasma dialami setelah 30-60 menit paska pemberian. Waktu paruh aminoglikosida rerata antara 1.5 hingga 3.5 jam pada fungsi ginjal yang normal, waktu paruh ini akan memendek pada keadaan demam dan akan memanjang pada penurunan fungsi ginjal.(Yoshizawa et al., 1998)

Aktifitas gentamicin adalah bakterisid, berdasarkan dayanya untuk menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom (partikel partikel kecil dalam protoplasma sel yang kaya akan RNA, tempat terjadinya sintesa protein) di dalam sel. Proses translasi (RNA dan DNA) diganggu sehingga biosintesa protein dikacaukan. Untuk menembus dinding bakteri mencapai ribosom, aminoglikosida yang bermuatan kation positif akan berikatan secara pasif dengan membran luar dinding kuman gram negatif yang mengandung muatan negatif.(Yoshizawa et al., 1998)

Terjadinya reaksi kation antibiotik akibat adanya potensial listrik transmembran sehingga menimbulkan celah atau lubang pada membran luar dinding kuman selain mengakibatkan kebocoran dan keluarnya kandungan intraseluler kuman memungkinkan penetrasi antibiotik semakin dalam hingga menembus membran sitoplasma, proses ini merupakan efek bakterisid aminoglikosida.(Yoshizawa et al., 1998)

#### 4. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik beberapa kesimpulan berikut:

1. Prosedur irigasi luka pasca operasi elektif ortopedi menggunakan *Gentamicin Sulfat* 80 mg lebih efektif dibandingkan NaCl 0,9% dalam mencegah IDO di RSUDZA.
2. Prosedur irigasi luka pasca operasi elektif ortopedi menggunakan *Gentamicin Sulfat* 160 mg lebih efektif dibandingkan NaCl 0,9% dalam mencegah IDO di RSUDZA.
3. Prosedur irigasi luka pasca operasi elektif ortopedi menggunakan *Gentamicin Sulfat* 160 mg tidak lebih efektif dibandingkan dosis 80 mg dalam mencegah IDO di RSUDZA.

## Daftar Pustaka

- Allegranzi, B., Nejad, S. B., Combescure, C., Graafmans, W., Attar, H., Donaldson, L. & Pittet, D. Burden Of Endemic Health-Care-Associated Infection In Developing Countries: Systematic Review And Meta-Analysis. *The Lancet* 2011; 377: 228-241.
- Anderson, D. J., Podgorny, K., Berríos-Torres, S. I., Bratzler, D. W., Dellinger, E. P., Greene, L., Nyquist, A.-C., Saiman, L., Yokoe, D. S. & Maragakis, L. L. 2014. Strategies To Prevent Surgical Site Infections In Acute Care Hospitals: 2014 Update. *Infection Control & Hospital Epidemiology* 2014;35: S66-S88.
- Bratzler, D. W., Dellinger, E. P., Olsen, K. M., Perl, T. M., Auwaerter, P. G., Bolon, M. K., Fish, D. N., Napolitano, L. M., Sawyer, R. G. & Slain, D. Clinical Practice Guidelines For Antimicrobial Prophylaxis In Surgery. *Surgical Infections* 2013; 14: 73-156.
- Dale, W. B., Peter, M. H. & Workgroup, S. I. P. G. W. Antimicrobial Prophylaxis For Surgery: An Advisory Statement From The National Surgical Infection Prevention Project. *Clinical Infectious Diseases* 2004; 38:1706-1715.
- De Jonge, S. W., Boldingh, Q. J., Solomkin, J. S., Allegranzi, B., Egger, M., Dellinger, E. P. & Boermeester, M. A. Systematic Review And Meta-Analysis Of Randomized Controlled Trials Evaluating Prophylactic Intra-Operative Wound Irrigation For The Prevention Of Surgical Site Infections. *Surgical Infections* 2017; 18:508-519.
- De Lissovoy, G., Fraeman, K., Hutchins, V., Murphy, D., Song, D. & Vaughn, B. Surgical Site Infection: Incidence And Impact On Hospital Utilization And Treatment Costs. *American Journal Of Infection Control* 2009; 37: 387-397.
- Dineen, S. P., Pham, T. H., Murray, B. W., Parker, B. J., Hartless, K., Anthony, T. & Huerta, S. Feasibility Of Subcutaneous Gentamicin And Pressurized Irrigation As Adjuvant Strategies To Reduce Surgical Site Infection In Colorectal Surgery: Results Of A Pilot Study. *The American Surgeon* 2015; 81: 573-579.
- Kaye, K. S. & Pogue, J. M. Infections Caused By Resistant Gram-Negative Bacteria: Epidemiology And Management. *Pharmacotherapy: The Journal Of Human Pharmacology And Drug Therapy*. 2015; 35: 949-962.
- Lee, J., Singletary, R., Schmader, K., Anderson, D. J., Bolognesi, M. & Kaye, K. S. Surgical Site Infection In The Elderly Following Orthopaedic Surgery: Risk Factors And Outcomes. *Jbjs*, 2006;88:1705-1712.
- Magill, S. S., Edwards, J. R., Bamberg, W., Beldavs, Z. G., Dumyati, G., Kainer, M. A., Lynfield, R., Maloney, M., Mcallister-Hollod, L. & Nadle, J. 2014. Multistate Point-Prevalence Survey Of Health Care-Associated Infections. *New England Journal Of Medicine* 2014; 370, 1198-1208.
- Nguyen, A., Pronk, A., Furnée, E., Pronk, A., Davids, P. & Smakman, N. 2016. Local Administration Of Gentamicin Collagen Sponge In Surgical Excision Of Sacrococcygeal Pilonidal Sinus Disease: A Systematic Review And Meta-Analysis Of The Literature. *Techniques In Coloproctology* 2016;20: 91-100.
- Pivot, D., Tiv, M., Luu, M., Astruc, K., Aho, S. & Fournel, I. 2011. Survey Of Intraoperative Povidone-Iodine Application To Prevent Surgical Site Infection In A French Region. *Journal Of Hospital Infection* 2011; 77: 363-364.
- Sanghavi, R. Drug Guideline: Gentamicin. Liverpool: Liverpool Hospital. 2016
- Yoshizawa, S., Fourmy, D. & Puglisi, J. D. 1998. Structural Origins Of Gentamicin Antibiotic Action. *The Embo Journal* 1998;17:6437-6448.