

# Dermatite atopica

## Da un singolo caso importanti insegnamenti

GIULIA PALONI, ROSANNA MENEGHETTI, ANNAMARTINA FRANZIL, FEDERICO MARCHETTI, GIORGIO LONGO

*Clinica Pediatrica, Istituto per l'Infanzia, IRCCS "Burlo Garofolo", Trieste*

*Oscurità, confusione ed errori di gestione. Correzioni ragionate e chiarificanti. Istruzioni per non sbagliare e per non complicare le cose semplici.*

### COS'È, COME SI PRESENTA E QUALE È LA CAUSA DELLA DERMATITE ATOPICA?

La dermatite atopica (DA) è una malattia infiammatoria cronica della cute, su base immunologica, caratterizzata da lesioni essudative e pruriginose e con una particolare secchezza della pelle, rilevabile anche in assenza di lesioni cutanee<sup>1</sup>. Il più delle volte inizia nei primi mesi di vita e con lesioni che interessano varie parti del corpo, in particolare le flessure delle braccia e gambe, le pieghe (tipico l'interessamento di quella retroauricolare) e nel bambino piccolo comunemente anche il cuoio capelluto e il volto (le guance in particolare). È una malattia complessa e multifattoriale che risulta dall'interazione tra fattori genetici e ambientali che coinvolgono la risposta immune, sia sistemica che cutanea, come pure l'integrità della barriera epidermica<sup>2,3</sup>. In questi pazienti infatti c'è una minore compattezza dei grassi cutanei (delle ceramidi), con una conseguente maggiore facilità alla perdita dell'acqua e maggiore secchezza cutanea, e una aumentata espressione di enzimi chimotriptici che rompono i legami fra le cellule epidermiche<sup>4,5</sup>. Inoltre, un aumentato pH cutaneo a livello dello strato corneo spiegherebbe, almeno in parte, l'estrema facilità con la

### ATOPIC DERMATITIS: LEARNING BY A CLINICAL CASE

*(Medico e Bambino 2008;27:33-37)*

#### Key words

*Atopic dermatitis, Allergy, Avoidance diet, Emollient treatment, Topical corticosteroid*

#### Summary

*Atopic dermatitis is a chronic inflammatory skin disorder with immunological etiology. It is characterized by itchy, exudative lesions and a particular "dry skin". It is a very common disease and the evidence supporting the efficacy and safety of standard treatments are well established. Nevertheless, it is very difficult to obtain an adequate compliance by parents, especially because of unclear and uncomplete explanation about the right treatment. Frequently, parents are concerned about the possibility of adverse effects of topical glucocorticoids and they do not understand the importance of topical care. On the other hand, an inappropriate avoidance diet can cause severe nutritional damages without any skin improvement. We report a case of a 9-month-old boy affected by serious atopic dermatitis which was wrongly treated. His mother was reticent to treat the boy with topical corticosteroid and she understood that the main treatment was the avoidance diet, but she was exhausted and wanted relief for her child. How should the problem be managed?*

quale le lesioni dermatitiche vengono colonizzate dallo stafilococco<sup>6</sup>. Questo germe riveste un ruolo eziopatogenetico rilevante nella dermatite atopica, in quanto l'enterotossina B dello stafilococco si comporta da superantigene, producendo una attivazione policlonale dei linfociti TH2 con successiva esplosione delle IgE e della risposta infiammatoria degli eosinofili<sup>7,8</sup>.

### DANIELE E UNA MAMMA DISORIENTATA E SFIDUCIATA

Conosciamo Daniele all'età di 9 mesi: nato a termine, con peso adeguato, senza alcuna familiarità per atopìa. Crescita sempre ottimale, allattato esclusivamente al seno sino al VI mese di vita. La ritardata introduzione di cibi solidi, o diversi dal latte

materno, era motivata dall'ipotesi di migliorare il controllo della dermatite atopica che Daniele presentava inaggravante fin dal 1° mese di vita. Da allora la mamma ha escluso dalla sua dieta l'uovo e tutti i suoi derivati, ma dopo aver eseguito il RAST (verso i 4 mesi di vita) ha escluso anche il frumento e il latte vaccino, perché risultati debolmente positivi. Successivamente, per lo scarso o nullo miglioramento della dermatite, le è stato suggerito di eliminare anche la carne di pollo, potenzialmente cross-reattiva con il bianco dell'uovo e la carne di manzo e di vitello, a loro volta potenzialmente cross-reattive con le proteine del latte vaccino.

Allo svezzamento Daniele ha mantenuto tutte queste limitazioni, e il latte materno è stato sostituito con un idrolisato proteico spinto. Malgrado tutto, ha continuato a presentare la dermatite, in particolare nel viso, nelle pieghe, al tronco, alle braccia e alle gambe, con fasi alternanti di miglioramento e peggioramento. Oltre alla dieta il trattamento è stato fatto con tante creme idratanti, diversi cortisonici topici e ripetuti cicli di antibiotico per os (sempre claritromicina) per le frequenti sovrapposizioni infettive.

Quando giunge alla nostra osservazione Daniele non mangia ancora alcun alimento solido e la sua unica fonte di nutrimento era limitata all'idrolisato proteico. Ogni tentativo con minestrine a base di riso o tapioca e mais sembravano peggiorare la dermatite e venivano interrotte dalla mamma anche perché Daniele non mostrava alcun appetito verso questi cibi solidi. La dermatite interessa ampie parti del corpo con lesioni essudanti e intensamente pruriginose (Figura 1 e 2). La mamma, ormai stanca e sfiduciata, è particolarmente preoccupata anche per la dieta assolutamente inadeguata che il bimbo conduce. Riguardo alla gestione topica della dermatite, i genitori di Daniele sembravano molto confusi: le creme emollienti erano applicate con una certa continuità (utilizzando diversi prodotti nel corso del tempo), ma senza la vera consapevolezza dell'obiettivo della terapia, vale a dire di mante-



Figura 1. Dermatitis atopica al volto e agli arti superiori.



Figura 2. Eczema infetto.

tere la migliore idratazione possibile della cute. La terapia steroidea topica era utilizzata saltuariamente (la madre non ricordava bene il nome dei cortisonici che aveva utilizzato, confondendoli con le creme idratanti), con molti timori in merito agli effetti collaterali che poteva comportare (una piccola cortisonofobia). L'impressione è che dalla dieta eseguita in modo rigoroso (quella sì) ci si attendessero "i risultati" per la cura definitiva della DA, anche se, come detto, di fatto mai raggiunta in modo soddisfacente.

Il caso di Daniele ci offriva pertanto più di una problematica da affrontare e cercare di risolvere. In primo luogo la cura della dermatite nella sua fase acuta attuale e nel mantenimento successivo, con la necessità di educare in modo efficace e complianti i genitori, in particolare riguardo il trattamento topico con lo steroide. Ma accanto a questo vi era il problema di riportare il bambino ad una dieta nutrizionalmente corretta. Per farlo avremmo però dovuto affrontare anche la possibile emergenza di una grave reazione anafilattica verso alcuni alimenti esclusi (vedi latte vaccino)

ai quali Daniele mostrava una spiccata positività (prick e RAST).

## LA TERAPIA DELLA DERMATITE ATOPICA

Considerata l'importante componente essudativa che da sola sappiamo essere indicativa di una chiara e preponderante componente di infezione sovrapposta (Figura 2) (di norma da *Staphylococcus aureus*), abbiamo associato un antibiotico attivo contro questo germe al trattamento steroideo. Per quest'ultimo, si è optato per la somministrazione per via orale, in considerazione dell'estensione delle lesioni, che avrebbero comportato un tempo di terapia e un carico di corticosteroide sistemico, se somministrato soltanto per via topica ancora maggiore. Infine abbiamo aggiunto al trattamento emolliente topico l'applicazione di un disinfettante naturale, l'eosina in soluzione acquosa che oltre all'azione antibatterica è utile per contrastare la componente essudativa delle lesioni. Questa scelta è peraltro proponibile soltanto nel bambino piccolo o lattante perché gravata dal non indifferente difetto di sporcare gli indumenti, le lenzuola e quant'altro venga a contatto con la pelle "dipinta" di rosso.

Quindi in pratica il trattamento intrapreso è stato il seguente:

- Eosina al 2% in soluzione acquosa (Figura 3), seguita dopo 20 minuti dal Gentalyn beta una volta al giorno e creme emollienti;
- Betametasona 1 mg/die per 3 giorni, poi a scalare: 0,5 mg per altri 3 giorni e 0,25 mg al di a giorni alterni per altri 3 giorni ancora.



Figura 3. Trattamento con eosina.

## LA NORMALIZZAZIONE DELLA DIETA

Il ruolo della restrizione dietetica nella DA è stato negli ultimi anni fortemente ridimensionato<sup>9</sup>. Di fatto le ultime linee guida della terapia<sup>2,10-12</sup> della DA ribadiscono invece l'importanza del trattamento topico (steroidi e creme emollienti) che, se correttamente condotto, non dovrebbe lasciare alcuno spazio all'intervento dietetico.

Ma certamente, di fronte a un bambino con DA, difficile da controllare soltanto con la terapia dermatologica, un tentativo di dieta di eliminazione può essere preventivo. Anche in questi casi è però mandatorio che l'esclusione di uno o più alimenti sia mantenuta soltanto quando ne sia dimostrata la reale efficacia (e non solo sulla base di un'impressione dei genitori o di una positività al prick). Questo non soltanto per le possibili negative ricadute nutrizionali e la difficile gestione da parte dei genitori, ma anche perché può accadere che la sospensione di un alimento verso il quale il bambino ha IgE specifiche (che risulta cioè prick positivo) lo porti in una condizione di rischio anafilattico per successive (magari accidentali e non volute) assunzioni, per quella che è stata definita la "fabbrica dei superallergici"<sup>13,14</sup>. Inoltre, nei casi in cui l'efficacia della dieta di esclusione sia dubbia, possiamo considerare l'utilità di una reintroduzione degli alimenti esclusi per verificare la ricaduta dell'eczema sul modello di un criterio ex-adiuvantibus.

Nel caso di Daniele ci trovavamo in una situazione limite con una esclusione di molti alimenti fondamentali nella normale dieta di un bambino di quella età (frumento, latte, uova e derivati, carne di pollo, manzo e vitello). Daniele in sostanza mangiava soltanto un idrolisato spinto e una minestrina di riso, tapioca e mais con carne di agnello. Questa minestrina era però regolarmente rifiutata dal bambino e la mamma non sembrava ansiosa di proporla o di forzare Daniele ad assumere nulla di più dell'idrolisato, in quanto era entrata nella forte convinzione che dermatite volesse dire inequivocabilmente allergia alimentare.

A questo punto, dopo aver rassicu-

rato sulla non gravità e sulla buona prognosi della dermatite, abbiamo per prima cosa riproposto a Daniele tutti gli alimenti che risultavano negativi e/o debolmente positivi ai prick test e al RAST. Sono stati così reintrodotti in rapida successione e senza alcun problema il semolino di frumento, la carne di manzo e il latte di soia (quest'ultimo in sostituzione dell'idrolisato spinto). Tutti i nuovi sapori sono risultati molto graditi a Daniele con grande gioia della mamma che con questo ha cominciato a intravedere la fine di un incubo. Per il latte vaccino, la positività del prick test e del RAST è risultata però di valore molto elevato: pomfo di 12 mm al prick by prick con latte vaccino e RAST di classe IV (18 kU/l); alterato anche il RAST per le proteine del latte: 9 kU/l quello dell'alfa-lattoalbumina e 3 kU/l quello della beta-lattoglobulina. Per rigore metodologico avremmo dovuto procedere con un test di provocazione orale, ma abbiamo ritenuto di non farlo per un insieme di motivi:

- 1) le positività RAST e cutanee ai valori più alti come quelle trovate a Daniele hanno un altissimo valore predittivo di una allergia clinica (positività al test di scatenamento)<sup>15</sup>;
- 2) il bambino era ancora sotto trattamento steroideo per via orale, e questo avrebbe certamente inficiato la risposta clinica;
- 3) l'impegno terapeutico della dermatite rappresentava già un carico di gestione non irrilevante per il medico e la famiglia, senza bisogno di aggiungere un'altra variabile come quella della reintroduzione di un alimento a rischio allergico.

Ci siamo così accontentati di aver reintrodotti il frumento, e la carne di manzo, ma anche, e soprattutto, di averlo avviato a una dieta con un latte molto più appetibile, meno costoso e di facile reperibilità come è il latte di soia. Il bambino ha di fatto ripreso subito, assieme all'appetito, la sua normale crescita ponderale che nelle ultime settimane era stata molto carente. L'introduzione del latte, previo test di scatenamento, è stata programmata più avanti, al 2°-3° anno di vita, età nella quale è più facile che Daniele abbia già

acquisito, se non completamente, almeno in parte, la sua tolleranza immunitaria verso il latte. A questo proposito è utile sottolineare che il test di scatenamento va fatto preferibilmente in ambiente protetto perché può esitare in una reazione reaginica, o anafilattica in senso lato, e non certo per l'ipotesi che possa peggiorare la dermatite.

## PERCHÉ È STATO IMPORTANTE QUESTO CASO? CHE COSA ABBIAMO IMPARATO?

Di fronte a un bambino con DA va sempre considerato in prima battuta il "corretto" trattamento topico (*Box 1*): l'uso precoce di uno steroide topico a bassa potenza, evitando l'uso continuativo ("pulse therapy") e il largo impiego delle creme emollienti. A tale riguardo non è sufficiente "prescrivere" il prodotto da utilizzare, ma è fonda-

### MESSAGGI CHIAVE

- ❑ Una buona terapia dermatologica dell'eczema infantum evita di dover ricorrere a inutili e difficili tentativi dietetici e migliora consistentemente la qualità di vita dei bambini e dei genitori.
- ❑ La terapia dermatologica si basa essenzialmente sull'uso di emollienti e di uno steroide topico a bassa potenza. Se sono presenti segni indicativi di infezione sovrapposta, è indicata la somministrazione iniziale, topica o generale a seconda del quadro, di antibiotici.
- ❑ La maniera più efficace di risparmiare steroidi ed evitare gli effetti collaterali ad essi correlati non è quella di evitarli durante le riaccerbazioni, ma quella di aggiungere un loro uso precoce a una applicazione continua di emollienti.
- ❑ La dieta di esclusione va considerata solo nei casi, rari, che non rispondano sufficientemente al trattamento dermatologico.
- ❑ La decisione di togliere un alimento va considerata sulla base dei costi e dei benefici attesi, non senza aver presente il rischio che l'esclusione totale dell'alimento possa indurre una perdita di tolleranza e il viraggio verso un alto rischio di reazioni anafilattiche per incontri occasionali con l'allergene.

**Box 1 - IL TRATTAMENTO TOPICO DELLA DERMATITE ATOPICA**

Il controllo dei sintomi della DA comprende un insieme di misure preventive e di trattamenti topici; inoltre dobbiamo considerare anche una terapia farmacologia sistemica quando i segni e i sintomi si manifestano nonostante le misure precedenti.

I cardini della **terapia topica** della DA comprendono:

- un trattamento emolliente/idratante regolare: creme emollienti da applicare 3 volte al dì (quelle più ricche di grassi hanno un'efficacia e durata maggiore, ma danno più fastidio, e vanno preferibilmente applicate la sera). In realtà la frequenza delle applicazioni va modulata in rapporto all'età, alla stagione e alle condizioni climatiche. Non è infatti conveniente "tormentare" con un eccessivo zelo terapeutico il bambino più grandicello o l'adolescente (per mettere le creme dobbiamo spesso anche spogliarli!) e non può essere nemmeno trascurato l'effetto accaldamento che ogni crema grassa determina con il rischio di provocare una sudamina. Durante la stagione calda può essere infatti conveniente evitare ogni crema, specie se la pelle non ha caratteristiche di particolare secchezza. Un momento molto opportuno per questa terapia è dopo il bagno, prima possibile (preferibilmente entro 3 minuti) per incarcere l'acqua nella pelle. Una volta scelto il prodotto, vanno prescritte grandi quantità dello stesso: poca quantità significa sottoutilizzo. Un bambino può avere necessità di consumare 500 g di crema emolliente ogni due settimane. A questo proposito è importante ricordare che il costo di queste creme emollienti è un elemento che non può essere sottovalutato. Non a caso il *New England Journal of Medicine* indica come prima scelta la vaselina solida al 50% con quella fluida in preparazione galenica<sup>3</sup>. Ma senza arrivare a questa soluzione certamente economica, ma poco accettata per l'alto grado di untuosità, possono andar bene anche le soluzioni del commercio: basta non adottare e consigliare le creme cosiddette "cosmeceutiche" (per intenderci quelle che si spacciano come "antinfiammatorie"), perché di fatto non sufficientemente antinfiammatorie per sostituire il cortisone e troppo costose per sostituire le normali creme emollienti. Importante è ricordare di non mettere le creme emollienti prima degli steroidi, perché ne impedirebbero l'assorbimento, ma anche perché nessuna crema grassa va applicata sulle lesioni in fase essudative; quindi prima curare con il cortisonico topico e poi mantenere la pelle sana, protetta e idratata con le creme emollienti.
- Utilizzo dei sostituti dei saponi (*syndets*), evitando in particolare l'uso di bagnoschiuma e shampoo. Infatti, sulla pelle, il sapone rimuove la barriera lipidica di protezione, aumenta la secchezza e con questo il prurito e la permeabilità agli irritanti ambientali.
- Un uso tempestivo (al primo apparire delle lesioni) evitando: a) trattamenti protratti senza interruzione; b) gli steroidi ad alta potenza; c) l'utilizzo di bendaggi occlusivi. Per dirla come gli Autori di lingua anglosassone: "*Short periods without occlusion*". Però, per poter arrivare a una terapia di pochi giorni/settimana (la cosiddetta "*week-end therapy*" o "*pulse therapy*") è prerequisito essenziale ottenere prima, e prima possibile, una completa remissione delle lesioni attive. Per questo, nell'affrontare un bambino con dermatite estesa e in fase florida, è raccomandato un trattamento iniziale più aggressivo che può richiedere anche più settimane (peraltro difficilmente più di 3 o 4). Il mantenimento sarà così facilmente gestibile con singole applicazioni di steroidi topici, una sola volta al giorno, preferibilmente alla sera.
- La quantità di corticosteroidi da applicare non deve essere eccessiva, ma nemmeno troppo scarsa. Usualmente la dose adeguata è espressa in termini di **fangertip units (FTUs)**, cioè unità di falange: una FTU è la quantità di crema che uscita dal tubetto occupa la lunghezza della falange distale del 2° dito. Questa quantità corrisponde all'incirca a 500 mg ed è adeguata e sufficiente a trattare un'area di cute pari a due palmi delle mani di un adulto, dita comprese.

Altri quantitativi di riferimento possono essere utili per mantenersi lontani dagli effetti sistemici degli steroidi. Questi quantitativi sono indicativamente: mezzo tubetto al mese (15 g) per i lattanti, 1 tubetto al mese per i bambini e 2-3 tubetti al mese per gli adolescenti e gli adulti.

Ma l'aspetto probabilmente più importante riguarda il composto da utilizzare. Come per le altre patologie che necessitano di corticosteroidi topici è sempre opportuno saper usare le dosi e i composti alla potenza minima efficace. Nella dermatite atopica e specie nell'età pediatrica sono da preferire gli steroidi più deboli come l'idrocortisone acetato (*Lanacort*, *Lenirti*, *Dermirit*) specie nelle sedi dove la pelle è più sottile e maggiore l'assorbimento dello steroide quali il volto, le palpebre in particolare, il collo e le flessure. Steroidi a più alta potenza possono essere necessari per lesioni inveterate fortemente lichenizzate o per la pelle più spessa come quella delle mani e dei piedi (in particolare palme e piante). I nuovi cortisonici topici (mometasone, fluticasone, prednicarbate, betametasona valerato) hanno dimostrato di avere un ottimo rapporto tra efficacia ed effetti negativi, e comunque anche per questi vale il principio base della terapia "*Short periods without occlusion*". Non utile infine e potenzialmente dannoso (inquinamento microbico) mescolare gli steroidi con le creme emollienti; per limitarne la dannosità, si fa molto meglio e prima scegliere un composto a potenza più bassa. Comunque sia, la maniera più efficace per risparmiare steroidi ed evitare gli effetti collaterali ad essi correlati non è quella di evitarli durante le riesacerbazioni, ma quella di usarli precocemente e insieme a una applicazione continua di emollienti.

mentale spiegare nel dettaglio alla famiglia gli obiettivi sintomatici della cura, i tempi e le modalità di utilizzo del trattamento topico.

Per arrivare a un facile controllo di base della dermatite è fondamentale portare rapidamente in remissione la dermatite. La pelle ricostruita, con il recupero della funzione di barriera, è la prima cura di se stessa. In questo modo si ottiene anche il grande vantaggio di avere un assorbimento limitatissimo dei corticosteroidi, che successivamente dovremo applicare.

Una buona terapia dermatologica evita di dover ricorrere a inutili e difficili tentativi dietetici e migliora consistentemente la qualità di vita di bambini e genitori.

La dieta di esclusione può essere considerata soltanto nei casi più gravi che non abbiano risposto adeguatamente al solo trattamento dermatologico (rari, rarissimi). Questa pesante opzione terapeutica non va pertanto considerata come riflesso condizionato a ogni prick positività verso trofoallergeni. Comunque sia, la dieta va poi

mantenuta soltanto se si dimostra immediatamente e chiaramente efficace.

La decisione di togliere un alimento va attentamente ponderata in un rapporto costi benefici che sappia considerare anche il possibile pericolo che l'esclusione produca una esasperazione anafilattica di semplici cutipositività.

**Indirizzo per corrispondenza:**

Giorgio Longo  
e-mail: [longog@burlo.trieste.it](mailto:longog@burlo.trieste.it)

**Bibliografia**

1. Cutrone M. Trattamento della dermatite atopica. Dermatite atopica: novità in terapia. Medico e Bambino (allegato) 2003, n° 3.
2. Eichenfield LF, Hanifin JM, Luger TA, Stevens SR, Pride HB. Consensus Conference on pediatric atopic dermatitis. J Am Acad Dermatol 2003;49(6):1088-95.
3. Hywel CW. Atopic Dermatitis. N Engl J Med 2005;352:2314-24.
4. Sator P, Schmidt J, Hönigsmann H. Comparison of epidermal hydration and skin surface lipids in healthy individuals and in patients with atopic dermatitis. J Am Acad Dermatol 2003;48(3):352-8.
5. Vasilopoulos Y, Cork MJ, Murphy R, et al. Genetic association between an AACC insertion in the 3'UTR of the stratum corneum chymotryptic enzyme gene and atopic dermatitis. J Invest Dermatol 2004;123(1):62-6.
6. Rippke F, Schreiner V, Doering T, Maibach HI. Stratum corneum pH in atopic dermatitis: impact on skin barrier function and colonization with *Staphylococcus aureus*. Am J Clin Dermatol 2004;5(4):217-23.
7. Machura E, Mazur B, Golemic E, Pindel M, Halkiewicz F. *Staphylococcus aureus* skin colonization in atopic dermatitis children is associated with decreased IFN-gamma production by peripheral blood CD4(+) and CD8(+) T cells. Pediatr Allergy and Immunol. Online Early Article, Published article online: 27-Jul-2007.
8. Gould HJ, Takhar P, Harries HE, Chevretton E, Sutton BJ. The allergic march from *Staphylococcus aureus* superantigens to immunoglobulin E. Chem Immunol Allergy 2007;93:106-36.
9. Miceli Sopo S. Quanto conta l'allergia alimentare nella genesi della dermatite atopica? Medico e Bambino 2004;10:631-9.
10. Hanifin JM, Cooper KD, Ho VC, et al. Guidelines of care for atopic dermatitis, developed in accordance with the American Academy of Dermatology (AAD)/American Academy of Dermatology Association "Administrative Regulations for Evidence-Based Clinical Practice Guidelines". J Am Acad Dermatol 2004;50(3):391-404.
11. Ellis C, Luger T, Abeck D, Allen R, Graham-Brown RA, De Prost Y. International Consensus Conference on Atopic Dermatitis II (ICCAD II): clinical update and current treatment strategies. Br J Dermatol 2003;148 Suppl 63:3-10.
12. Hoare C, Li Wan Po A, Williams H. Systematic review of treatments for atopic dermatitis. Health Technology Assessment 2000;4:1-191.
13. Longo G, Berti I, Calvani M. La fabbrica dei superallergici chiude i battenti o apre nuove filiali? RIAP 2006;6:11-23.
14. Longo G, Barbi E, Meneghetti R, et al. Anafilassi da allergia alle proteine del latte vaccino: clinica, storia naturale, challenge e desensibilizzazione orale. Medico e Bambino 2004;23(1):20-9.
15. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentration in predicting symptomatic food allergy. J Allergy Clin Immunol 2001;107:891-896.