

## Bioquímica y Patología Clínica

Bioquímica y Patología Clínica  
ISSN: 1515-6761  
ISSN: 2684-0359  
[revista@aba-online.org.ar](mailto:revista@aba-online.org.ar)  
Asociación Bioquímica Argentina  
Argentina

Acosta Liotard, Florencia Belén  
Recuento plaquetario y volumen plaquetario medio en  
pacientes sépticos: variación y asociación con mortalidad  
Bioquímica y Patología Clínica, vol. 87, núm. 1, 2023, Enero-, pp. 22-26  
Asociación Bioquímica Argentina  
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=65174086002>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

## ARTÍCULO ORIGINAL

## Recuento plaquetario y volumen plaquetario medio en pacientes sépticos: variación y asociación con mortalidad

*Platelet count and mean platelet volume in septic patients: Variation and association with mortality*

Acosta Liotard, Florencia Belén<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>División Hematología Laboratorio Central, Hospital Italiano de Córdoba. Córdoba, Argentina.

\*Contacto: Acosta Liotard, Florencia Belén; División Hematología, Hospital Italiano de Córdoba, Roma 550, Córdoba Capital; flor.acostaliotard@hotmail.com

### Resumen

**Introducción:** Sepsis es uno de los principales diagnósticos de ingreso a terapia intensiva. En el paciente crítico, la trombocitopenia es el desorden hematológico más común y un potente indicador que expresa un desacople fisiológico global. En estas condiciones, se puede alterar el tamaño de las plaquetas, que se detecta mediante el volumen plaquetario medio (VPM). **Objetivos:** Evaluar la variación del recuento plaquetario y VPM a lo largo de las primeras 72 horas de internación y su asociación con mortalidad en pacientes que permanecieron en la UTI del Hospital Italiano de Córdoba con diagnóstico de sepsis o shock séptico de cualquier etiología. **Materiales y métodos:** Se analizan mediciones de VPM y recuento total de plaquetas de pacientes internados en terapia intensiva, divididos en dos grupos: sépticos y controles no sépticos, al inicio, a las 24, 48 y 72 horas de internación. **Resultados:** El recuento plaquetario en pacientes sépticos fue menor que el de pacientes con diagnóstico no relacionado; el VPM fue significativamente mayor a partir de las 24 horas y este hecho resultó más evidente según aumentaban los días de internación. Los pacientes sépticos que mueren tienen un VPM mayor que aquellos que obtienen el alta a partir de las 24 horas y recuentos plaquetarios menores que los que obtienen el alta a partir de las 72 horas. Además, poseen un VPM superior a 10,0 fL a partir de las 24 horas de internación. **Discusión:** Validar este parámetro como biomarcador pronóstico en sepsis significaría tener una herramienta práctica y rápidamente disponible.

**Palabras clave:** volumen plaquetario medio, plaquetas, sepsis.

### Abstract

**Introduction:** Sepsis is one of the main causes for admission of patients in intensive care units (ICUs). In critical patients, the most common hematologic disorder and powerful indicator expressing a global physiological disorder is thrombocytopenia. In these conditions, platelet size, which can be detected by the mean platelet volume (MPV), may be altered. **Objectives:** To evaluate the variation in the platelet count and MPV during the first 72 hours of hospitalization and its association with mortality, in patients who were hospitalized in ICUs with a diagnosis of sepsis or septic shock of any etiology. **Materials and methods:** Measurements of the MPV and platelet counts were analyzed in patients hospitalized in ICUs, divided into two groups: septic and non-septic controls, at admission and 24, 48, 72 hours after admission. **Results:** The mean platelet count of septic patients was lower than that of a patient with unrelated diagnosis, and the MPV was significantly higher after 24 hours and became more evident as the days of hospitalization increased. The MPV of septic patients who died was higher than that of those who survived after 24 hours and the platelet count was lower than that of those who survived after 72 hours. In addition, their MPV was higher than 10.0 fL after 24 hours of hospitalization. **Conclusions:** Validating the MPV as a sepsis prognostic biomarker would mean having a practical and quickly available tool.

**Key words:** Mean platelet volume, platelets, sepsis.

## Introducción

La sepsis es una de las principales causas de ingreso de enfermos en las unidades de terapia intensiva (UTI); afecta a millones de individuos en todo el mundo cada año y posee una mortalidad asociada que va desde el 30 al 40 %, que podría ascender por encima del 50 % en los casos de shock séptico<sup>1-6</sup>.

En el año 2016, el *Tercer documento internacional de consenso para la definición de sepsis y shock séptico (Sepsis-3)* definió sepsis como “una disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección”. A su vez, *shock séptico* fue definido “como una subcategoría de la sepsis en la que ocurren alteraciones circulatorias y del metabolismo celular”<sup>7</sup>.

Las manifestaciones clínicas de los estadios de sepsis son, a menudo, inespecíficas y variables, lo que dificulta su reconocimiento precoz. La sepsis es considerada un síndrome difícil de definir, diagnosticar y tratar, inducido por un proceso infeccioso que cursa con alteraciones en la perfusión tisular y disfunción orgánica<sup>2,3,6</sup>. Los síntomas y signos específicos pueden no aparecer inicialmente y el diagnóstico microbiológico puede tardar incluso días. Sin embargo, no iniciar un tratamiento precozmente incrementa el riesgo de mortalidad<sup>1,4,8</sup>.

La sepsis es la respuesta desregulada del organismo ante una infección. Se reconoce por un conjunto de manifestaciones clínicas, hemodinámicas, hematológicas, bioquímicas e inflamatorias, las cuales forman parte de una respuesta orgánica global. La mortalidad relacionada con la sepsis se asocia a una falla multiorgánica debida en parte a trombosis microvascular y disfunción endotelial, que involucra también las plaquetas<sup>6,9</sup>.

Los pacientes ingresados en la UTI presentan comúnmente alteraciones en la hemostasia, de las que la trombocitopenia es un hallazgo frecuente, con una prevalencia entre el 8,3 - 67,7 % y una incidencia entre el 14 - 44 %<sup>9,10,13</sup>. Dicha variabilidad numérica, así como su interpretación como factor de pronóstico adverso, se asocia, según diversos estudios, a múltiples variables, entre las cuales se citan características de la población, grado de trombocitopenia, edad mayor o menor que 65 años, patología de base y su severidad, medicación utilizada y las características de la UTI<sup>10</sup>. En el paciente crítico, la trombocitopenia es el resultado de una alteración profunda de los mecanismos

que regulan la producción, el almacenamiento y la destrucción plaquetaria. Desde esta perspectiva, se convierte en un potente indicador que expresa un desacople fisiológico global<sup>10-12</sup> y es reconocida como un signo de mal pronóstico asociado con un aumento de la mortalidad y prolongación de la estadía del paciente en UTI<sup>9,10,13</sup>.

En condiciones inflamatorias y trombóticas, se puede alterar el tamaño de las plaquetas (PLT), que se detecta en el análisis de células de sangre de rutina mediante la evaluación del volumen plaquetario medio (VPM)<sup>1</sup>. El VPM es una medida precisa de las dimensiones de las plaquetas calculada por autoanalizadores. El rango varía entre 7,0 - 10,0 fL y el porcentaje de plaquetas con volúmenes mayores que 10,0 fL, es aproximadamente de 0,2 - 5,0 % del total. En condiciones fisiológicas, el VPM es inversamente proporcional al recuento de plaquetas, lo cual está asociado al mantenimiento de la hemostasia y preservación de la masa plaquetaria<sup>14</sup>.

Los biomarcadores son capaces de mejorar el manejo de los pacientes con sepsis, pues proporcionan una información adicional a la valoración clínica y son capaces de aumentar, en su conjunto, la capacidad diagnóstica y pronóstica<sup>2-4</sup>. Existe una amplia literatura sobre los biomarcadores empleados en el diagnóstico y manejo de la sepsis, sin embargo, ninguno de ellos tiene una sensibilidad y especificidad suficientemente adecuada para ser empleado en la práctica clínica como *gold* estándar<sup>8</sup>. Los biomarcadores más utilizados a nivel clínico siguen siendo la eritrosedimentación y proteína C reactiva, pero estos también presentan limitaciones a la hora de diagnosticar pacientes con infección<sup>2,3,8</sup>. No todas las unidades del sector de la salud cuentan con marcadores de inflamación más específicos y sensibles como la procalcitonina, ya que son de difícil acceso por sus costos elevados. Por esto, se necesita contar con alternativas de marcadores de fácil acceso y bajo costo para una detección temprana de la infección<sup>1,2,8</sup>.

El valor diagnóstico de los marcadores de inflamación podría diferenciar procesos infecciosos de los que no lo son, así como definir el pronóstico y predecir la gravedad de un proceso patológico, permitiendo iniciar un plan terapéutico adecuado y medir su respuesta<sup>1,4,8</sup>.

La relación entre la gravedad de la sepsis y la trombocitopenia

**Tabla 1.** Recuento plaquetario medio al ingreso a terapia intensiva y a las 24, 48 y 72 horas posteriores.

	Grupo control Media ± DS ( $\times 10^9/L$ )	Pacientes sépticos Media ± DS ( $\times 10^9/L$ )	p - valor
Plaquetas t 0 h	302 ± 164	219 ± 106	0,0060
Plaquetas t 24 h	293 ± 143	210 ± 104	0,0023
Plaquetas t 48 h	320 ± 158	194 ± 99	0,0001
Plaquetas t 72 h	303 ± 152	184 ± 102	0,0001

► DS, desvío estándar; t, tiempo; h, horas.

**Tabla 2.** Volumen plaquetario medio al ingreso a terapia intensiva y a las 24, 48 y 72 horas posteriores.

	Grupo control Media ± DS [fL]	Pacientes sépticos Media ± DS [fL]	p - valor
VPM t 0 h	9,84 ± 0,81	11,39 ± 1,47	0,0717
VPM t 24 h	9,88 ± 0,80	11,64 ± 1,58	0,0001
VPM t 48 h	9,80 ± 0,77	11,69 ± 1,59	0,0001
VPM t 72 h	9,74 ± 0,66	11,75 ± 1,62	0,0001

► VPM, volumen plaquetario medio; DS, desvío estándar; t, tiempo; h, horas.

nia se ha sugerido en muchos estudios publicados<sup>18,19</sup>. En la sepsis, el VPM se ha estudiado como marcador pronóstico: su valor absoluto y el recuento de plaquetas han resultado adecuados predictores de mala evolución; sin embargo, han sido realizados con pocos pacientes y no se ha establecido un valor de corte<sup>14,15</sup>. Esto último, debería ser tenido en cuenta, ya que en la literatura, se definen algunos puntos de corte en relación con el método y el contador hematológico utilizado<sup>14</sup>.

Este estudio tiene como objetivo evaluar la variación del recuento plaquetario y del VPM a lo largo de las primeras 72 horas de internación y su asociación con la mortalidad en pacientes que permanecieron en la UTI del Hospital Italiano de Córdoba con diagnóstico de sepsis o shock séptico de cualquier etiología.

## Materiales y métodos

### Diseño y población

Se diseñó un estudio descriptivo de observación, retrospectivo, en el que se analizaron los valores del VPM y el recuento total de plaquetas de pacientes divididos en dos grupos: sépticos (S) y controles no sépticos (C), según cumplieran o no los criterios de sepsis. Las mediciones fueron realizadas en un autoanalizador Sysmex XN-550 Roche®, al inicio y a las 24, 48 y 72 horas de internación. La metodología utilizada para la medición del recuento de plaquetas fue la impedancia con enfoque hidrodinámico y para la determinación del VPM, se calculó un promedio de los volúmenes medidos de cada plaqueta. Los datos fueron obtenidos de muestras de sangre entera con anticoagulante EDTA-K3 de pacientes mayores de 16 años, de ambos sexos, que permanecieron en la UTI entre abril y julio del año 2020, con una estadía no menor que 7 días.

Se excluyeron pacientes que recibieron transfusiones de plaquetas durante su internación, pacientes con enfermedades hematológicas, trombocitopenia preexistente o inducida por quimioterapia.

Se considera como trombocitopenia a recuentos menores que  $150 \times 10^9/L$  y como aumento del VPM, a valores que superan los 10,0 fL.

### Análisis de datos

El análisis estadístico se realizó mediante software InfoStat, versión 2020I y el análisis de comparación de medias, a través de la prueba t de student para muestras independientes. El nivel de significancia considerado en las pruebas de hipótesis fue del 5%.

### Consideraciones éticas

El estudio fue realizado en concordancia con las normativas éticas dispuestas por la Ley de protección de datos personales (25326) y aprobado por el Comité de Ética del Hospital Italiano de Córdoba.

### Resultados

Para el análisis de datos se contó con un total de 40 pacientes sépticos (rango de edad: 45 a 82 años) y se lo comparó con un grupo control de 36 pacientes (rango de edad: 21 a 85 años) con otras patologías no relacionadas, tales como politraumatismos, accidentes cerebrovasculares, cánceres, síndromes coronarios agudos, nefrectomías y cirugías varias del tracto gastrointestinal y genitourinario.

### Recuento plaquetario de 0, 24, 48 y 72 horas en pacientes sépticos vs. grupo control

En este caso, el objetivo fue identificar si existía diferencia significativa entre el recuento plaquetario medido al ingreso a la UTI y a las 24, 48 y 72 horas, entre los pacientes con diagnóstico de sepsis (S) y el grupo control (C).

El análisis de los resultados (Tabla 1) muestra que existe significancia suficiente como para inferir que el recuento medio de plaquetas en pacientes con sepsis es menor que el que presentan los pacientes con diagnóstico de otras patologías no relacionadas tanto al ingreso como durante la internación en la UTI.

### VPM de 0, 24, 48 y 72 horas en pacientes sépticos vs. grupo control

Al evaluar los valores del VPM en ambos grupos de pacientes durante el mismo período de tiempo de internación, se observa (Tabla 2) que el VPM de los pacientes sépticos es significativa-

**Tabla 3.** Comparación de la media del recuento plaquetario en pacientes sépticos que obtuvieron el alta vs. aquellos que fallecieron.

	Pacientes sépticos que obtuvieron el alta Media ± DS [fL]	Pacientes sépticos que fallecieron Media ± DS [fL]	p - valor
Plaquetas t 0 h	214 ± 77	220 ± 113	0,5629
Plaquetas t 24 h	218 ± 77	208 ± 111	0,4066
Plaquetas t 48 h	217 ± 92	188 ± 101	0,2285
Plaquetas t 72 h	239 ± 131	170 ± 91	0,0455

► DS, desvió estándar; t, tiempo; h, horas.

mente mayor que el del grupo control a partir de las 24 horas de internación y, además, este hecho resulta más evidente según aumentan los días de internación.

#### Plaquetopenia en pacientes sépticos

Otro dato importante a analizar fue la relación existente entre la sepsis y la plaquetopenia. En este sentido, se evaluó si los pacientes con diagnóstico de sepsis presentaban plaquetopenia asociada. De los resultados obtenidos en este análisis, surge que no se puede considerar la plaquetopenia como una consecuencia asociada a la sepsis.

#### Recuento plaquetario en pacientes sépticos: alta vs. óbito

Al comparar las medias del recuento de plaquetas entre aquellos pacientes que obtuvieron el alta con las de aquellos que murieron, se observó que existe diferencia significativa solo a partir de las 72 horas de internación (Tabla 3); es decir, que existe evidencia significativa para inferir que aquellos pacientes sépticos que mueren tienen menor cantidad de plaquetas que los que obtienen el alta a partir de las 72 horas de su internación.

#### VPM en pacientes sépticos: alta vs. óbito

En la comparación de medias del VPM entre aquellos pacientes que obtuvieron el alta desde su internación y aquellos que murieron, los resultados muestran diferencias estadísticamente significativas a partir de las 24 horas de internación (Tabla 4); es decir, que existe evidencia significativa para inferir que aquellos pacientes sépticos que mueren tienen un VPM mayor que los que obtienen el alta a partir de las 24 horas de su internación.

#### VPM como predictor de mortalidad

En el análisis realizado, además de comparar los VPM de aquellos pacientes sépticos que obtuvieron el alta luego de su internación con aquellos que murieron, se intentó establecer un valor de corte que pudiera ser utilizado como predictor de mortalidad de los mismos. Utilizando un valor de VPM de 10,0 fL, determinado como el límite superior del rango de referencia propuesto por bibliografía anteriormente, se observó que aquellos pacientes que murieron presentaron un valor medio de VPM a partir de las 24 horas de internación superior a 10,0 fL.

**Tabla 4.** Volumen plaquetario medio al ingreso a terapia intensiva y a las 24, 48 y 72 horas posteriores en pacientes sépticos que obtuvieron el alta vs. aquellos que fallecieron.

	Pacientes sépticos que obtuvieron el alta Media ± DS [fL]	Pacientes sépticos que fallecieron Media ± DS [fL]	p - valor
VPM t 0 h	10,56 ± 0,67	11,60 ± 1,55	0,1092
VPM t 24 h	10,55 ± 0,66	11,92 ± 1,63	0,0004
VPM t 48 h	10,55 ± 0,89	11,98 ± 1,60	0,0104
VPM t 72 h	10,93 ± 1,79	11,96 ± 1,54	0,0540

► VPM, volumen plaquetario medio; DS, desvió estándar; t, tiempo; h, horas

## Discusión

Los cambios observados en el valor del VPM se podrían explicar como un mecanismo de respuesta adaptativa a la pérdida aguda de plaquetas durante el estadio inflamatorio<sup>16,17</sup>. En condiciones fisiológicas, el recuento de plaquetas en sangre periférica y la trombopoyesis de los megacariocitos de la medula ósea están interregulados. En presencia de trombopoyetina (TPO), el megacariocito produce, en primera instancia, plaquetas que, posteriormente, formarán las plaquetas maduras de la circulación periférica. Se sabe que las plaquetas jóvenes poseen mayor VPM<sup>9,17</sup>. Sin embargo, este proceso podría no ser suficiente cuando el requerimiento de plaquetas se da en forma aguda. Existe un mecanismo rápido de producción de plaquetas que implica la rápida fragmentación del citoplasma del megacariocito. Estas plaquetas exhiben un aumento del VPM y su morfología también es diferente. Este modo de liberar plaquetas jóvenes permitiría restaurar el *pool* circulante de las mismas en situaciones de consumo, como sucede en el caso de los pacientes sépticos. Sin embargo, estas plaquetas podrían tener importantes diferencias funcionales debido a una menor organización de sus microtúbulos y, por lo tanto, podrían contribuir a un mal impacto clínico en estos pacientes, ya que las alteraciones en el volumen de las plaquetas son predictivas de eventos trombóticos<sup>9,16</sup>.

En este trabajo, se buscó determinar si el uso del VPM, un biomarcador reportado en el hemograma de rutina y que se viene usando con relativo éxito en patología cardiovascular, metabólica e inflamatoria/infecciosa, serviría como un indicador de pronóstico de severidad y mortalidad en pacientes sépticos<sup>15</sup>. Los resultados obtenidos permiten confirmar lo reportado en trabajos anteriores en cuanto a que el VPM es un predictor de mala evolución. Además, se observó que a partir las 24 horas de internación, el aumento del VPM es significativamente mayor y se vuelve aún más evidente a las 48 y 72 horas luego de la internación. En los pacientes que fallecieron, el recuento plaquetario resultó significativamente menor a las 72 horas de internación y el VPM, significativamente mayor a las 24 horas, en comparación con pacientes que obtuvieron el alta. En cuanto al punto de corte para predecir mortalidad, se pudo confirmar que el valor de 10,0 fL establecido en la bibliografía para la metodología utilizada es superado a partir de las 24 horas de internación en los pacientes que fallecieron.

Validar el VMP como biomarcador de pronóstico en sepsis significaría sumar una herramienta práctica y rápidamente disponible. No se cuenta con un punto de corte establecido, dado que los valores varían de acuerdo con la población estudiada, la técnica utilizada para medirlo y el tiempo de realización de la prueba. Es una línea de investigación interesante que implica un biomarcador asequible, pero se requieren estudios con mayor número de pacientes que definan su potencial utilidad.

## Agradecimientos

Agradecemos al equipo del Hospital Italiano por brindar los recursos y herramientas necesarios para llevar a cabo este estudio y, en especial, al Jefe del Servicio del Laboratorio Central,

Dr. Mario Cipolletta, y la Jefa de Docencia del Laboratorio, Dra. Raquel Kaplan.

## Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

## Referencias bibliográficas

- Calzada A, Navarro J, Delgado L, Torres O, Grarillo J, Sanchez J, et al. Utilidad del volumen plaquetario medio para descartar sepsis. Rev Asoc Mex Med Crit Ter Int 2016; 30[2]:87-94.
- Perez J, Llerena M, Piedra M, Perez E. Biomarcadores en la sepsis y su valor predictivo. Rev Cub Medi Int Emerg 2020; 19[1]:e651.
- Prado-Diaz A, Castillo A, Rojas D, Chavez-Vivas M. Marcadores moleculares en el diagnóstico y pronóstico de sepsis, sepsis grave y choque séptico. Rev Fac Med 2017; 65[1]:145-55.
- Miguel Bayarri V, Casanoves-Laparra E, Pallas-Beneyto L, Sancho-Chinesta S, Martin-Osorio L, Tormo-Calandin C, et al. Valor pronóstico de los biomarcadores procalcitonina, interleukina 6 y proteína C reactiva en la sepsis grave. Med Intensiva 2012; 36[8]:556-562.
- Rhee C, Jones T, Hamad Y, Pande A, Varon J, OBrien C, et al. Prevalence, Underlying Causes and Preventability of Sepsis-Associated Mortality in US Acute Care Hospitals. Crit Care Med 2019; 2[2]:187-571.
- Merlan M, Aguilar E, Gonzalez M. Relación entre el diagnóstico precoz y la mortalidad por sepsis: nuevos conceptos. Medicent Electrón 2021; 25[2]:265-290.
- Singer M, Deutschman CS, Warren C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock [Sepsis-3]. JAMA. 2016; 315:801-10.
- Holgado A, Guadiana L, Fernandez-Carbajido A, Albaladejo M. Sepsis biomarkers: A review. An Real Acad Farm 2017;83[2]:175-187.
- Fanny Vardon-Boune F, Gratacap MP, Groyer S, Ruiz S, Georges B, Seguin T, et al. Kinetics of mean platelet volume predicts mortality in patients with septic shock. PLoS ONE 2019; 14[10]:e0223553.
- Abad T, Cermelj M, Scoles G. Trombocitopenia como factor de riesgo de morbi-mortalidad en los pacientes hospitalizados en una Unidad de Terapia Intensiva. Hematología 2021; 25[1]:9-18.
- XIII Congreso Argentino de Hemostasia y Trombosis, Sociedad Argentina de hematología. El paciente trombocitopénico en la Unidad de Cuidados Intensivos. Hematología 2018; 22:30-36.
- Marco-Schulke C, Sanchez-Casado M, Hortiguela-Martin V, Quintana-Diaz M, Rodriguez-Villar S, Perez-Pedrero M, et al. Trombocitopenia grave al ingreso en una unidad de cuidados intensivos en pacientes con disfunción orgánica. Med Intensiva 2012; 36[3]:185-192.
- Greinacher A, Selleng S. How I evaluate and treat thrombocytopenia in the intensive care unit patient. Blood 2016; 128[26]:3032-3042.
- Korniluk A, Koper-Lenkiewicz O, Kaminska J, Kemona H, Dymick-Pierkarska V. Mean Platelet Volume [MPV]: New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. Mediators of Inflamm. 2019; 17[2019]:1-14.
- Velez JL. ¿El volumen medio plaquetario es un predictor de mortalidad en pacientes sépticos? Revisión de la literatura. Rev Med Hered. 2018; 29:116-120.
- Carrillo R, Carrillo D. Volumen Plaquetario medio, su significado en la práctica clínica. Med Sur 2013; 20[1]:17-20.
- Hernandez Y, Castillo D. Rev Cub Hema Inmunol Hemo 2022; 38(1):e1446.
- Mavrommatis A, Theodoris T, Orfanidou A, Roussos C, Christopoulou-Kokkinou V, Zakynthinos S, et al. Coagulation system and platelets are fully active in uncomplicated sepsis. Crit Care Med 2000;28:451-457.
- Vincent J, Yagushi A, Lobo FLM, Pradier O. Platelet function in sepsis. Crit Care Med 2002;30:S313-S317.