



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



**LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA
SECCION DE PARASITOLOGIA**

Av. Circunvalación s/n cuadra 28 San Borja. Lima 41. Perú Tlf: 435 3348, 435 3349, 435 3189 anexo 226 fax: 436 1027

**EVALUACION COMPARATIVA DE LA EFICACIA Y RESIDUALIDAD DE UNA
NUEVA FORMULACIÓN EN BASE A LA COMBINACIÓN DE FIPRONIL CON
PYRIPROXYFEN (FIPRONEX DUO), EN EL CONTROL DE PULGAS EN CANINOS**

¹Amanda Chávez V., ¹Eva Casas A.
**Laboratorio de Parasitología
Facultad de Medicina Veterinaria**

RESUMEN

Se realizó una prueba experimental de campo, con el fin de evaluar la efectividad y comparar el efecto residual de una combinación de fipronil/pyriproxyfen y otro a base de fipronil, en el control de pulgas en caninos, bajo condiciones de infestación natural y artificial, en un albergue ubicado en los Huertos de Manchay de Lurín, entre los meses de abril a setiembre del 2004. Se seleccionaron un total de 30 caninos naturalmente infestados con pulgas (*Ctenocephalides felis*, *Ct. canis* y *Pulex irritans*), se distribuyeron mediante un diseño randomizado en 3 grupos de 10 animales cada uno y recibieron el siguiente tratamiento: Grupo A: Controles no tratados; Grupo B: Tratado con (fipronil/pyriproxyfen), administrado por aspersion, a la dosis de 3-6 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo, de una solución de (Fipronex Duo), cuya composición es de fipronil al 0.25% + pyriproxyfen al 0.25% y Grupo C: Tratado con (Fipronil), administrado por aspersion, a la dosis de 3-6 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo, de una solución comercial de fipronil (Frontline) al 0.25%. Cada grupo era sacado por separado y en forma interdiaria a un área común de tierra y césped para sus ejercicios y juegos. Los resultados mostraron que el grupo de animales tratados con la combinación fipronil/pyriproxyfen presentó una efectividad del 100% en casi todo los días que duró el experimento a excepción del día 90 donde la efectividad fue del 98.2%; obteniéndose nuevamente un 100% de efectividad en las evaluaciones realizadas hasta el día 120. En el grupo tratado con fipronil la efectividad observada hasta el día 45 fue del 100%; sin embargo, a partir de la observación del día 60 hasta el día 120, fecha que terminó la evaluación, la efectividad disminuyó del 99.3 al 95%. El efecto residual mostrado por la combinación fipronil/pyriproxyfen al controlar la población de pulgas inmaduras existentes en el medio ambiente, repercutió en la reducción de la

¹ Laboratorio de Parasitología. UNMSM. Lima-Perú.

carga de pulgas del grupo control el cual también se vio reducido sin tratamiento alguno hasta un 98% y los resultados observados en el grupo tratado sólo con fipronil también se han visto beneficiados por este efecto, ya que su efecto residual demostrado por diversos estudios no excede los 3 meses. No se presentó caso alguno de reacción tóxica posterior a la aplicación de los medicamentos empleados en el estudio.

Palabras claves: pyriproxyfen, fipronil, pulgas, DAPP, *Ctenocephalides felis*.

SUMMARY

An experimental field test intended to evaluate the effectivity and compare the residual effect of a combination of fipronil/ pyriproxyfen and another based on fipronil, was performed for the control of fleas in canines, under conditions of natural and artificial infestation, in an asylum for indigent dogs located in Huertos de Manchay of Lurin, between the months of April and September, 2004. A total of 30 canines naturally infested with fleas (*Ctenocephalides felis*, *Ct. canis* and *Pulex irritans*), was selected and distributed by means of a randomized design into 3 groups of 10 animals each one, and received the following treatment. Group A: for control, not treated. Group B: animals treated with fipronil/ pyriproxyfen, administered by aspersion at a dose of 3 - 6 mL/kg of body weight depending on the length of hair, by means of a solution of Fipronex Duo, composed by fipronil 0.25% + pyriproxyfen 0.25%. Group C: animals treated with Fipronil, administered by aspersion at a dose of 3 - 6 mL/kg of body weight depending on the length of hair, by means of a commercial solution of fipronil (Frontline) at 0.25%. Each group was taken out separately to a common area of earth and grass for exercises and entertainment, every two days. Results showed that the group of animals treated with the combination fipronil/ pyriproxyfen presented an effectivity of 100% on nearly every day of the experiment, with exception of day 90, when the effectivity was 98.2%, obtaining 100% of effectivity again in subsequent evaluations up to day 120. In the group treated with fipronil, the effectivity obtained up to day 45 was 100%. However, in the period between day 60 and day 120, date of end of the evaluation, the effectivity decreased from 99.3 to 95%. The residual effect obtained with the combination fipronil/ pyriproxyfen controlled the immature flea population existing in the environment, and at the same time, reduced on 98% the charge of fleas of the control group without any treatment. The results observed in the group treated only with fipronil were also benefitted by this effect, since its residual effect demonstrated in different studies does not exceed 3 months. There were no cases of toxic reaction after the application of the medicaments used in the study.

Key words: pyriproxyfen, fipronil, fleas, DAPP, *Ctenocephalides felis*.

AGROVET MARKET S.A

Antecedentes

Las pulgas constituyen los ectoparásitos de mayor frecuencia en las mascotas, así lo demuestran diversos estudios realizados en Lima Metropolitana durante la estación de verano de 1997 en 400 caninos provenientes de diversos distritos del cono sur. Se halló que la prevalencia de ectoparásitos en los perros fue de 85.5%; donde las pulgas ocuparon el primer lugar: *Ctenocephalides felis* 53.5%, *Ctenocephalides canis* 10%, *Pulex irritans* 21.5% y *Echinophaga gallinacea* 13,3% (Liberato, 1998). Otro estudio realizado durante la estación de verano de 1999 en 400 caninos de ambos sexos, provenientes de los distritos del cono norte, se halló una prevalencia de ectoparásitos de 98.8%, y donde también las pulgas ocupaban los primeros lugares (89% *Ctenocephalides felis*; 1.8% *C. canis*, 37.8% *Pulex irritans* y 2.5% *Echinophaga gallinacea*) (Estares , 1999).

Se conoce que la pulga ocasiona en las mascotas afectadas diversos trastornos fisiopatológicos, que cursan con disminución del apetito y un mal aprovechamiento de los alimentos, debido a la irritación causada por la picadura; haciendo que el animal se muestre inquieto, se rasque y deje de alimentarse adecuadamente y consecuentemente conllevará a un retraso en el crecimiento y pelo deslucido. Por ser un parásito hematófago, ocasiona anemia e hipoproteinemia ya que la hembra puede succionar hasta 13.6 ul de sangre al día. Además, no se debe olvidar que la pulga es hospedero intermediario de otros parásitos como el *Dipylidium caninum*, *Dipetalonema reconditum* y vector de *Yersinia pestis* (Leguía, 2002).

Las pulgas adultas se alimentan de sangre que ingieren con su picadura, generando un proceso alérgico en la mayoría de los perros, en algunos gatos y en humanos, lo cual se conoce como dermatitis alérgica por pulgas, “DAPP”. Las pulgas pueden vivir varios años y pasar si alimentarse varios meses bajo condiciones extremas. Las pulgas pueden permanecer en una estructura mucho tiempo después de que los mamíferos hayan sido extraídos del lugar (Leguía, 2002)

Las pulgas hembras depositan huevos luego de 24 – 48 horas de la primera ingesta de sangre continuando hasta más allá de los 100 días. La producción diaria de huevos oscila entre los 40 y 50; siendo la postura en toda su vida de 2000 huevos. Las larvas eclosionan en 2 a 21 días; estas son blancas y con pelos, no poseen patas ni ojos pero sí mandíbulas y dependen de la disponibilidad de alimento, humedad relativa y otros factores ambientales. En el medio ambiente se alimenta de sangre seca, heces de pulgas secas y cualquier materia orgánica en descomposición.

Luego de dos mudas la larva de tercer estadio empieza a construir su capullo llamado pupa (Leguía, 2002).

La etapa de pupa dura aproximadamente una semana. El nuevo adulto puede permanecer en el capullo por algún tiempo; frente a condiciones adversas puede esperar hasta un año sin salir. La emergencia o salida del adulto ocurre en respuesta a la presión aplicada al capullo, la detección de calor corporal del hospedero, vibraciones o la presencia de dióxido de carbono en la respiración del hospedero. Este ciclo es variable pudiendo demorar tan solo 12 días como 174 días dependiendo de las condiciones de humedad y temperatura del ambiente; bajo las condiciones ambientales de Lima, en verano el ciclo se contempla entre 3 a 5 semanas.

El aspecto más importante de este ciclo es que las pulgas adultas solo están en el animal para alimentarse, representando solo un 5% de la cantidad total que existe en su ambiente habitual; es decir, que la población restante de pulgas consiste en 50% huevos, 35% larvas y 10% pupas se hallan en el medio ambiente. Por lo tanto, es necesaria la adopción de programas de prevención y control para eliminar las pulgas adultas y sus demás estadios.

Dentro de los programas de tratamiento y control se cuentan en el mercado con diferentes tipos de pulguicidas de diversos grupos químicos, cuyo éxito depende del tratamiento simultáneo del animal como del medio ambiente. Dentro de ellos se tienen; los organofosforados, carbamatos, piretroides y fenilpirazoles, quienes funcionan interfiriendo con el metabolismo energético o en el sistema nervioso de los insectos.

Del grupo de los fenilpirazoles, se conoce al fipronil el cual está emparentado en el modo de acción con las ivermectinas, en el sentido que actúa como bloqueante de los canales del ion cloro regulados por el GABA en las membranas de las células nerviosas. Normalmente el flujo del cloro está regulado por el receptor de GABA que permite la apertura del canal, provocando la hiperpolarización de las células nerviosas con la consecuente disminución de su actividad, su bloqueo anula el efecto neurotransmisor del GABA, inhibiendo el flujo intracelular de aquel ion conduciendo a la muerte del parásito por hiperexcitación (Blagburn y Lindsay., 2001).

Recientemente se han buscado nuevos enfoques para el control de insectos, utilizando drogas que interfieran con sus sistemas y que presenten seguridad para los vertebrados.

Así los reguladores de crecimiento de insectos (IGRs) (metopeno, fenoxicarb, piriproxifen), son drogas que imitan los efectos de la hormona de crecimiento, incapacitando al insecto a mudar o transformarse en fase subsiguiente, causándoles deformidades y la muerte. Los procesos de muda están controlados básicamente por las hormonas: La Ecdisona u hormona de muda y la Hormona juvenil (JH), cuando existe mayor cantidad ecdisona se produce la muda. La concentración circulante de hormona juvenil es máxima en los estados tempranos de la larva y bajan a un mínimo al final del periodo de pupa. La metamorfosis ocurre cuando la hormona juvenil desaparece de la circulación; por lo tanto una alteración en la relación concentración hormonal y estadio de desarrollo, conllevará a un desarrollo anormal. También se cuentan con los Inhibidores del desarrollo de los insectos (IDIs) (diflubenzurón, lufenurón) que interfieren con la formación de una nueva cutícula, ocasionando rompimiento o malformaciones durante la muda, al impedir el desarrollo del exoesqueleto del insecto por la inhibición de la síntesis de quitina o de las vías de su deposición; de esa manera las larvas no puedan salir del huevo (Blagburn y Lindsay., 2001; Leguía, 2002).

Ante la amplia ventaja que esta mostrando este nuevo grupo de insecticidas el laboratorio AGROVETMARKET S.A. ideó la combinación de las dos moléculas que se encuentran revolucionando el control de pulgas y que actúan en forma complementaria, es así que se actúe sobre los estadios adultos (fipronil) y frente a las formas preadultas eligió utilizar el pyriproxifen (IGRs), estable a la luz ultravioleta y capaz de unirse al pelo y piel del animal tratado.

Ambos productos pueden ser aplicados por aspersión, por lo que resultaría ser de fácil aplicación y con obvias ventajas con relación a los otros métodos tradicionales de aplicación, como son los baños de inmersión o inyectables haciendo posible el establecimiento de programas de control más prácticos, efectivos y basados en criterios epidemiológicos y sobre todo por su inocuidad en los animales, en el hombre y en el medio ambiente.

El Objetivo del presente estudio fue evaluar y comparar la efectividad, efecto residual de una combinación de fipronil/pyriproxifen, así como el fipronil, en el control de pulgas en caninos, bajo condiciones de infestación natural y artificial.

MATERIALES Y METODOS

Lugar de estudio y animales:

La investigación se realizó en caninos de un albergue ubicado en los Huertos de Manchay de Lurín, entre los meses de abril a setiembre del 2004. Los animales que se encontraban en dicho lugar en número aproximado a 50, los mismos que se encontraban agrupados en número de 10 caninos por canil; teniendo un área común de tierra y césped para sus ejercicios y juegos. Se seleccionaron un total de 30 caninos de edades y tamaños similares, infestados naturalmente por pulgas (*Ctenocephalides felis*, *Ct. canis* y *Pulex irritans*). Mediante un diseño randomizado se distribuyeron en 3 grupos de 10 animales cada uno y recibieron el tratamiento siguiente:

Grupo A: Controles no tratados

Grupo B: Tratados con (fipronil/pyriproxyfen), administrado por aspersión, a la dosis de 3-6 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo, de una solución de (Fipronex Duo), cuya composición es de fipronil al 0.25% + pyriproxyfen al 0.25%

Grupo C: Tratados con (fipronil), administrado por aspersión, a la dosis de 3-6 ml/Kg de peso vivo, dependiendo del largo del pelo, de una solución comercial de fipronil (Frontline al 0.25%

Método:

1 Determinación de infestación y efectividad de los tratamientos.

El procedimiento para evaluar las pulgas presentes en cada uno de los grupos, se realizó mediante el método del peine fino para lo cual se colocó un animal dentro de una caja semiabierta y con fondo blanco, espolvoreándose metilcarbamato sobre todo el animal, por espacio de un minuto, posteriormente se procedió a coleccionar todas las pulgas obtenidas con el peine fino, así como las que caían en la caja durante el manejo. Se contaron la totalidad de pulgas presentes en 5 animales por cada grupo del experimento

2 Determinación del nivel de infestación del medio ambiente

El procedimiento para evaluar las pulgas presentes en el medio ambiente, se realizó mediante el recuento de todas las pulgas que pasaban sobre un papel blanco de 20 x 30 cm colocado en la parte central de cada canil, por espacio de 60 segundos

3 Infestación Artificial

Con la finalidad de determinar el poder residual del producto; todos los animales del experimento fueron expuestos a los 19, 37, 52, 67, 82, 97 y 112 días post tratamiento a reinfestaciones artificiales, colocándoles aproximadamente 30 pulgas sobre cada canino, así como dentro de cada canil fueron puestos además de pulgas sus huevos.

4 Infestación Natural

Durante todo el tiempo que duró el experimento los animales tratados pasearon en el área común de todos los caninos presentes en el albergue, para que estuvieran expuestos también a reinfestaciones naturales.

Los fármacos empleados fueron transportados, almacenados y administrados siguiendo las indicaciones de sus respectivas casa productora: **AGROVET MARKET S.A.**

3. Análisis estadístico:

Se halló el porcentaje promedio de ácaros vivos tanto individualmente como en forma colectiva. También fue determinada la efectividad del tratamiento mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Efectividad} = \frac{\text{PPI} - \text{PPF}}{\text{PPI}} \times 100$$

Donde: PPI: Población inicial de pulgas

PPF: Población final de pulgas

CUADRO 1 Promedio de pulgas vivas en 10 caninos tratados con la combinación de fipronil/pyriproxyfen; fipronil y el grupo control no tratado, en 120 días posteriores al tratamiento. Manchay-Lurín 2004.

Día de Evaluación	Control no tratados	fipronil/pyriproxyfen	fipronil
0	174	162	139
15	126	0	0
30	7	0	0
45	1	0	0
60	2	0	1
75	2	0	1
90	5	3	3
105	0	0	2
120	4	0	7

CUADRO 2 Porcentaje promedio de la efectividad de una combinación de fipronil/pyriproxyfen y fipronil, en el control de pulgas en 10 perros tratados durante 120 días posteriores al tratamiento. Manchay-Lurín 2004.

Período de evaluación	fipronil/pyriproxyfen	fipronil
0-15	100.0	100.0
0-30	100.0	100.0
0-45	100.0	100.0
0-60	100.0	99.3
0-75	100.0	99.3
0-90	98.2	97.8
0-105	100.0	98.6
0-120	100.0	95.0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El cuadro 1, muestra la carga inicial de pulgas vivas observadas en los diferentes grupos de caninos tratados y no tratados, cuyo número promedio varió de 139 a 174 pulgas por animal en todos los grupos del experimento. A partir de los 15 días post tratamiento se observó que los grupos tratados sufrieron una reducción abrupta y significativa. Solamente en el grupo fipronil se observó que a partir de los 60 días se inicia un ligero incremento en el número de pulgas. En relación al medio ambiente este fue evaluado al inicio del experimento donde se determinó el nivel de infestación de pulgas contabilizándose en promedio en todos los caniles, la presencia de cinco pulgas adultas sobre un papel de referencia, por espacio de 60 segundos. Sin embargo ninguna pulga volvió a ser contabilizada en los caniles luego de iniciado el experimento.

En el cuadro 2, se consignan los porcentajes promedio de efectividad de una combinación de fipronil/pyriproxyfen, y fipronil, en el control de pulgas de perros infectados natural y artificialmente. El grupo de animales tratados con fipronil/pyriproxyfen presentó una efectividad del 100% en casi todos los días que duró el experimento a excepción del día 90 donde la efectividad fue del 98.2%. Sin embargo las siguientes evaluaciones realizada hasta el día 120 se obtuvo nuevamente 100% de efectividad. Mientras que el grupo tratado con fipronil la efectividad observada hasta el día 45 fue del 100%. Sin embargo a partir de la observación del día 60 hasta los 120 días fecha que terminó la evaluación, la efectividad disminuyó del 99.3 al 95%.

Una observación que llamó la atención fue la reducción de la carga de pulgas presentes en el grupo control no tratado, a partir de los 30 días post tratamiento donde se observó un 96% de reducción, hasta un 98% a los 120 días de observación, este efecto se puede explicar en el hecho de que cada grupo era sacado por separado y en forma interdiaria a un área común de tierra y césped para sus ejercicios y juegos; ocurriendo que tanto pelos y descamaciones cutáneas eran dejados en el medio ambiente. Estudios realizados en pelos de animales impregnados con diferentes dosis de pyriproxyfen demostraron que, aún en pequeñas dosis ocasionaría efecto ovicida en las hembras expuestas a esos pelos (Stanneck et al, 2002; Rust, 1997). Se conoce también que dentro de la biología de la pulga, sus larvas se alimentan de sangre seca, heces de pulgas ricas en sangre y de cualquier materia orgánica en descomposición (heces de perro, pelos, etc) (Leguía, 2002). Por lo que es evidente suponer que debido al efecto residual de la combinación fipronil/pyriproxyfen, quede impregnado en los pelos, probablemente en las heces de pulgas tratadas y descamaciones de los animales controlando la población de pulgas inmaduras existentes en el medio ambiente; repercutiendo de esta manera en la reducción de la carga de pulgas en el grupo control, ya que el número de ellas disminuyó sin tratamiento alguno aplicado al animal o al medio ambiente. Este hecho explicaría también, por que el efecto residual del fipronil superó los 90 días, reportados tiempo máximo.

Al revisar la literatura disponible no se tiene referencias sobre la efectividad de esta nueva combinación fipronil/pyriproxyfen, ya que ambos principios han sido evaluados independientemente en el control de pulgas ya sea sobre el animal o en aplicación sobre el medio ambiente como ocurre con el pyriproxyfen en aerosol el cual alcanza un efecto residual de hasta 7 meses (Hinckle *et al.*, 1995), mientras el período residual reportado para el caso de aplicación del Fipronil en caninos es de 90 días (Dryden, *et al.*, 2000). Sin embargo Kawada y Hirano (1996), encontraron que se puede controlar larvas de pulgas hasta por 12 meses si se aplica pyriproxyfen sobre el ambiente a dosis de 1 mg/m² y 0.2 mg/m² y hasta 3 meses cuando se usa la proporción de 0.04 mg/ m². Mientras que otro IGRs como el metopreno a una concentración de 1 mg/m² se obtiene un efecto residual de 12 meses y con 0.2 mg/ m² da un efecto residual de 6 meses.

Existen, pocos trabajos de campo que demuestren una combinación de productos que actúen tanto contra las formas adultas e inmaduras de la pulga. Así, uno de ellos es la combinación de fipronil y metopreno en forma de spot on, para el tratamiento de pulgas en gatos, demostrando una efectividad que osciló entre 77 al 99%, durante un período residual de 50 días (Pérez *et al*; 2003)

El análisis de los resultados del presente estudio nos indicarían que no existieron diferencias estadísticas significativas al nivel de 0.05 entre los grupos de trabajo realizados en el control de pulga, hasta el día 105 post tratamiento.

Así mismo, los resultados de este estudio hasta los 120 días post tratamiento nos demostró que la combinación de fipronil/ pyriproxyfen, presentó una efectividad del 98 al 100% en el control de pulgas; mientras que con la aplicación de fipronil solo, mostró una efectividad del 95 al 100% en el control de pulgas. Debido probablemente al efecto residual presentado por la combinación fipronil/pyriproxyfen al controlar la población de pulgas inmaduras existentes en el medio ambiente. Además se apreció una reducción de la carga de pulgas del grupo control sin tratamiento alguno hasta un 98%, por lo tanto los resultados observados en el grupo tratado sólo con fipronil también se habrían visto beneficiados por este efecto, ya que el efecto residual demostrado en diversos estudios no excedieron los 3 meses. Además, al examen clínico de estos caninos, no se presentaron caso alguno de reacción tóxica posterior a la aplicación de los medicamentos empleados en el estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Blagburn BL; DS. Linsay** 2001 Ectoparasiticidas. (En: Adams R. Farmacología y Terapéutica Veterinaria) p. 1101-1104. 2da. Ed. Editorial Acribia. Zaragoza España.
- Dryden MW; TM Denenberg; S. Bunch** 2000. Control of fleas on naturally infested dogs and cats and in private residences with topical spot applications of fipronil or imidacloprid. Vet. Parasitol. 93(1):69-75.
- Estares L.P.** 1999 Prevalencia de ectoparásitos en *Canis familiares* en los distritos de San Juan de Lurigancho, San Martín de Porras, Comas e Independencia de Lima Metropolitana. Tesis Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM. 21p.
- Hinkle NC; PG Koehler; RS Patterson** 1995 Residual effectiveness of insect growth regulators applied to carpet for control of cat flea (Siphonaptera:Pulicidae) larvae. J. Econ. Entomol. 88(4):903-906.
- Kawada H; M. Hirano** 1996. Insecticidal effects of the insect growth regulators methoprene and pyriproxyfen on the cat flea (Siphonaptera:Pulicidae). J. Med. Entomol. 33(5):819-822.
- Leguía G.P.** 2002. Enfermedades Parasitarias epidemiología y control de perros y gatos. P. 78-82. 2ºed. Editorial De Mar.Lima-Perú.
- Liberato W.** 1998 Prevalencia de ectoparásitos en *Canis familiares* en los distritos de San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo y Villa el Salvador. Tesis Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM. 21p.
- Pérez T.G.; S.G. Escalada; A.M. Santiago; M.F. Iglesias** 2003. Control de pulgas en gatos, mediante una combinación de fipronil y metopreno en forma Spot On. Asociación Argentina de Medicina Fe. [OnLine] disponible: www.aamefe.org.ar/control_pulgas_gatos.htm [09/09/2004]
- Rust M.K.; M.W. Dryden** 1997. The Biology, Ecology, and Management of cat flea. Annu. Rev. Entomol. 42:451-473.
- Stanneck D; K. L. Soholt; N. Mencke** 2002. An evaluation of the effects of pyriproxyfen on eggs and adults of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera:Pulicidae) Irish Veterinary Journal 55(8): 383-387.