

Eficácia da flumetrina 1% “spot-on” no controle de *Psoroptes ovis* em coelhos naturalmente infestados*

Diego Dias da Silva¹, Monique M. Lambert², Cristiane N. Coelho³, Lilian Cristina de S.O. Batista⁴, Tiago A.P. Nunes⁵, Thaís R. Correia⁶, Fabio B. Scott⁷ e Julio I. Fernandes⁸⁺

ABSTRACT. Silva D.D., Lambert M.M., Coelho C.N., Batista L.C.S.O., Nunes T.A.P., Correia T.R., Scott F.B. & Fernandes J.I. [Efficacy of 1% flumethrin “spot-on” in naturally infested rabbits for *Psoroptes ovis*.] Eficácia da flumetrina 1% “spot-on” no controle de *Psoroptes ovis* em coelhos naturalmente infestados. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 37(Supl.1):1-5, 2015. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Anexo 1, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, *Campus Seropédica*, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: vetjulio@yahoo.com.br

Due the fact that considered docile, small and easy to handle, domestic rabbits have been bred as pets. Skin diseases caused by parasitic agents are common. Sometimes asymptomatic, infestation by mites species *Psoroptes ovis* can cause inflammation of the ear canal, ear drooping, crusting and pruritus. The goal of the study was to evaluate the efficacy of pyrethroid flumethrin applied directly into the auditory canal for treatment of *P. ovis* in naturally infested rabbits. 12 rabbits divided into two groups were used: Group 1, control group and group 2, treated with 1% flumethrin (1mg/kg) as a single dose. The clinical and parasitological evaluations of the animals were performed on days 0, +3, +7, +14, +21, +28 and +35 after treatment. The effectiveness of *P. ovis* was 83.33% at day +3; +21; +28 and +35, for 100% only on days +7 and +14. All rabbits in the treated group showed high clinical, except an animal that had four score on day 0. In the control group, all animals showed an increase in the score and worsening of symptoms. The flumethrin 1% pour-on at a dosage of 1 mg / kg administered directly into the ear canal was effective in controlling *P. ovis* in naturally infested rabbits without causing no adverse reactions in treated animals.

KEY WORDS. Diseases of rabbits, psoroptic mange, treatment, pyrethroid.

*Recebido para em 3 de novembro de 2015.

Aceito para publicação em 4 de dezembro de 2015.

¹ Médico-veterinário, MSc. Hospital Veterinário Chip Dog, Rua Rio da Prata, 831, Bangu, Rio de Janeiro, RJ 21820-092. E-mail: diegodiasmv@gmail.com

² Médica-veterinária, MSc. Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), *Campus Seropédica*, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: monique_lambert@hotmail.com-bolsista CAPES.

³ Zootecnista, MSc. CPGCV, IV, UFRRJ, *Campus Seropédica*, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: cnunes@hotmail.com-bolsista CAPES.

⁴ Médica-veterinária, MSc. CPGCV, IV, UFRRJ, *Campus Seropédica*, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: liliancsobatista@hotmail.com - bolsista CAPES.

⁵ Médico-veterinário, MSc. Clínica Veterinária Xanadu. Ladeira da Freguesia, 70, Jacarepaguá, Rio de Janeiro, RJ 22760-090. E-mail: tiagoapn@hotmail.com

⁶ Médica-veterinária, DSc, Departamento de Parasitologia Animal (DPA), IV, UFRRJ, *Campus Seropédica*, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: thaisrca@gmail.com

⁷ Médico-veterinário, PhD, DPA, IV, UFRRJ, *Campus Seropédica*, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: scott.fabio@gmail.com

⁸ Médico-veterinário, DSc, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, IV, UFRRJ, *Campus Seropédica*, Ecologia, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. *Autor para correspondência, E-mail: vetjulio@yahoo.com.br

RESUMO. Por serem considerados dóceis, pequenos e de fácil manejo, coelhos domésticos têm sido criados como animais de companhia. Problemas dermatológicos causados por agentes parasitários são comuns. Por vezes assintomática, a infestação por ácaros da espécie *Psoroptes ovis* pode causar inflamação do canal auditivo, inclinação da orelha, formação de crostas e prurido. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia do piretróide flumetrina, aplicada diretamente no conduto auditivo, no tratamento de *P. ovis* em coelhos naturalmente infestados. Foram utilizados 12 coelhos divididos em dois grupos: grupo 1, grupo controle e grupo 2, tratado com flumetrina 1% (1mg/Kg) em dose única. As avaliações clínicas e parasitológicas dos animais foram realizadas nos dias 0, +3, +7, +14, +21, +28 e +35, após o tratamento. A eficácia para *P. ovis* foi 83,33% no dia +3; +21; +28 e +35, obtendo 100% apenas nos dias +7 e +14. Todos os coelhos do grupo tratado apresentaram alta clínica, exceto um animal, que apresentava escore 4 no dia 0. No grupo controle, todos os animais apresentaram aumento no escore e piora do quadro clínico. A flumetrina 1% *pour-on* na dose de 1mg/Kg administrada diretamente no conduto auditivo foi eficaz no controle de *P. ovis* em coelhos naturalmente infestados, sem causar nenhuma reação adversa nos animais tratados.

PALAVRAS-CHAVE. Doenças de coelhos, sarna psoróptica, tratamento, piretróide.

INTRODUÇÃO

Criações de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) vem aumentando no Brasil. Além da importância zootécnica, com ênfase na produção de carne e subprodutos, vem ganhando cada vez mais evidência no mercado pet, tratados como animais de companhia (Afonso et al. 2008), pois ser considerada uma espécie dócil, visualmente agradável, de fácil manejo alimentar (Melo et al. 2008) de alto valor de mercado e procura (Moura 2015).

Entre as principais enfermidades que afetam esses animais, destacam-se as dermatológicas, sendo parasitos os principais responsáveis por essas doenças (Hoppmann & Barron 2007). Dentre esses podemos citar *Psoroptes ovis* (Wall & Kolbe 2006), ectoparasito mais descrito nos coelhos domésticos, encontrado principalmente nas orelhas podendo levar a quadros de otite clínica, cursando com hiperemia, congestão, excesso de cerúmen, corrimento malcheiroso, ulcerações e formação de crosta e tecido de granulação. Em casos severos, a infestação pode se alastrar para outras partes do corpo, nota-

damente na cabeça, pescoço e pernas (Chen et al. 2000, White et al. 2002).

Apesar de diversos grupamentos químicos já serem descritos para o tratamento de *P. ovis*, novos compostos e vias de administração são objetivos de estudo, com o intuito de desenvolver produtos mais seguros e mais práticos para a utilização nos animais de companhia (Fernandes et al. 2012).

Os piretróides são moléculas lipofílicas que apresentam rápida absorção, distribuição e excreção, sendo a classe inseticida e acaricida mais empregada no mundo (Yamada et al. 2003). Apresentam amplo espectro de ação (Watkinson 1989) podendo ser aplicado nos animais em diferentes vias (O'Brien 1999).

Os piretróides são classificados, em relação ao seu modo de ação, em dois tipos. O tipo I atua com descargas repetitivas nos canais de sódio além de ter um coeficiente de temperatura negativo, ou seja, com a diminuição da temperatura aumenta seu poder inseticida. Já os piretróides tipo II atuam na despolarização da membrana e nos receptores do ácido gama aminobutírico (GABA) e possuem coeficiente de temperatura positiva (Valentine 1990).

Alguns dos piretróides mais rotineiramente utilizados na medicina veterinária incluem a cipermetrina, deltametrina, permetrina e a flumetrina (Taylor 2001).

A flumetrina é um piretróide do tipo II, de quarta geração, utilizada na medicina veterinária no controle de carrapatos, piolhos, moscas e ácaros, através de formulações *spray*, *pour-on* e banhos convencionais (Anadón et al. 2009).

Existem relatos na literatura sobre o emprego da flumetrina no controle de artrópodes parasitos (Akkaya & Perk 1997, Manjunath & Kumar 2012, Mehlhorn et al. 2012), inclusive no controle de *P. ovis* em bovinos (Sievers & Quintana 1989, Losson & Lonneux 1992). Contudo, até o momento, não existe na literatura consultada trabalhos sobre a utilização da flumetrina no controle dessa espécie de ácaro em coelhos.

O objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia da flumetrina 1%, por meio de via otológica, no controle de *P. ovis* em coelhos naturalmente infestados.

MATERIAL E MÉTODOS

A utilização de animais no presente estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética de Uso de Animal (CEUA) da Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da UFRRJ (FAPUR), sendo aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animal (CEUA) da mesma Universidade com o número de protocolo 18/2015. O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Qui-

mioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), pertencente à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Foram utilizados 12 coelhos, machos e fêmeas, nunca antes submetidos a qualquer tipo de tratamento ectoparasiticida. Todos se encontravam naturalmente infestados por *P. ovis*, pesando entre dois e dois quilos e oitocentos gramas e idade variando entre seis meses e um ano. Durante o experimento os coelhos foram alojados em gaiolas suspensas, onde receberam água e ração comercial peletizada *ad libitum*.

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Tratado, onde os animais receberam tratamento com flumetrina 1% (Bayticol® 1% "Pour-on" (Bayer Saúde Animal), na dose de 1 mg/Kg, via otológica e grupo controle, no qual foi administrado o mesmo volume do tratamento de solução fisiológica a 0,9%. Em cada animal pertencente ao grupo tratado, foi aplicado uma única vez, flumetrina 1% na dosagem de 1 mg/Kg. Foram realizadas avaliações nos dias +3, +7, +14, +21, +28 e +35 após o tratamento. Para avaliar a presença de *P. ovis*, foram coletadas, com auxílio de zaragatoas, amostras de cerúmen das orelhas dos coelhos. Todas as amostras coletadas foram posteriormente avaliadas em laboratório, através de microscopia estereoscópica, sendo consideradas positivas pela observação de ácaros vivos. O escore da lesão e o critério utilizado na avaliação das orelhas dos coelhos foram os seguintes: 0 para orelhas aparentemente normais; 1 para lesão dentro da orelha; 2 para lesão no terço inferior da orelha; 3 para lesão com extensão de dois terços inferiores da orelha e 4 para lesão com extensão maior que dois terços inferiores da orelha (Pan et al. 2006).

A eficácia foi calculada através da seguinte fórmula: (número de orelhas infestadas com os ácaros vivos antes do tratamento - número de orelhas infestadas com os ácaros vivos após o tratamento) / (número de orelhas infestadas com os ácaros vivos antes do tratamento) x 100 (Adaptado de Marchiondo et al. 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os animais do grupo controle mantiveram-se positivos para *P. ovis* em todos os dias experimentais, apresentando prurido intenso e formação acentuada de crostas nas orelhas.

No grupo tratado observou-se ausência de *P. ovis* vivos nas orelhas de cinco dos seis animais no dia +3, apresentando eficácia de 83,33%. Nos dias +7 e +14, todos os animais mantiveram-se negativos para *P. ovis*, com eficácia de 100%. Nos dias subsequentes de avaliações, somente um coelho apresentou resultado positivo para *P. ovis*, mantendo eficácia de 83,33% até o dia +35 (Tabela 1).

O escore da lesão das orelhas do grupo tratado regrediu a partir do dia +2, quando todos os animais obtiveram resultados zero para o escore, exceto um coelho, que no início do estudo apresentou escore 4, obtendo no dia +2 uma melhora significativa com escore 2. No dia +7, o escore desse mesmo coelho foi a 1 e assim se manteve nos dias +14 e +21, porém, nos dias +28 e +35, o escore desse mesmo coelho aumentou para 2. Esse coelho mostrou-se positivo para *P. ovis* a partir do dia +21 (Tabela 2). No grupo controle, todos os animais mantiveram seus escores iniciais, ou apresentaram aumento no escore da lesão das orelhas, e conseqüentemente, piora em seu quadro clínico.

Várias substâncias têm sido relatadas como sendo eficazes no controle de *P. ovis*, utilizadas por diferentes vias e em diversos protocolos (Fernandes et al. 2012, Fernandes et al. 2013). Os coelhos submetidos ao tratamento com o piretróide flumetrina obtiveram 100% no controle de *P. ovis* entre os dias +7 e +14. Entretanto, um animal voltou a apresen-

Tabela 1. Presença de *Psoroptes ovis* nas orelhas dos coelhos pertencentes aos grupos controle e tratado com flumetrina 1%, antes e depois do tratamento.

Grupo / Animal	Presença de <i>Psoroptes ovis</i> vivos/Dia Experimental													
	Dia 0		Dia + 3		Dia + 7		Dia + 14		Dia +21		Dia +28		Dia +35	
	OE ^a	OD ^b	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD
Controle														
1	+ ^c	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tratado														
7	+	+	- ^d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
12	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eficácia (%)	-		83,3		100		100		83,3		83,3		83,3	

^aOrelha esquerda; ^bOrelha direita; ^cPositivo; ^dNegativo.

Tabela 2. Escore de lesão causada por *Psoroptes ovis* em coelhos pertencentes aos grupos controle e tratado com flumetrina 1%, antes e depois do tratamento.

Grupo / Animal	Grau de Lesão ^a antes e depois do tratamento													
	Dia 0		Dia + 3		Dia + 7		Dia + 14		Dia + 21		Dia + 28		Dia + 35	
	OE ^b	OD ^c	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD
Controle														
1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4
4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Tratado														
7	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	4	4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2
12	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^aDe acordo com Pan et al. (2006); ^bOrelha esquerda; ^cOrelha direita.

tar ácaros vivos do dia +21 ao dia +35. Como os animais tratados não tinham contato com outros animais, o fato de ter sido encontrado ácaros vivos após o tratamento deve-se tratar, provavelmente, de recidiva e não reinfestação por *P. ovis*.

Animais severamente acometidos tem como característica a extensa formação de crostas em todo o conduto auditivo dos coelhos. Para animais tratados com produtos de aplicação *pour-on* o volume do medicamento é muito pequeno e a formação de crostas impede a melhor disseminação do produto, sendo essa a possível explicação para a recidiva dos ácaros em um animal, justamente o animal que apresentava o maior escore (grau 4). Batista e colaboradores (2013) utilizaram um fenilpirazol de formulação *pour-on* com metodologia similar ao estudo realizado, aplicando o produto diretamente no conduto auditivo. O produto foi eficaz no controle dos ácaros, mas os escores dos animais tratados não passavam do grau 2, que significa uma menor quantidade de crostas e possivelmente, melhor dispersão do produto.

Outra possibilidade, mais remota, poderia ser aventada pela localização dos ácaros. Embora os ácaros estejam localizados nas orelhas, eventualmente podem ser encontrados na cabeça, principalmente nos casos mais graves (Muller & O'Connor 2002). Como foi realizado tratamento apenas no conduto auditivo, possíveis ácaros podem não ter tido contato com o produto e esses ácaros desencadearem novamente a infecção.

Há relatos de outros piretróides utilizados no controle desse ácaro em coelhos. Melo e colaboradores (2008) utilizaram a permetrina a 2% na formulação *spray* e obtiveram eficácia de 100% em todos os dias experimentais (até o dia +21), resul-

tados similares ao encontrados com a utilização da flumetrina. Vale ressaltar que os animais avaliados por Melo e colaboradores não foram avaliados de acordo com as lesões, sendo informado apenas se os animais eram positivos ou negativos, dificultando a comparação dos resultados e que o acompanhamento foi realizado apenas até o dia +21.

Já Fernandes e colaboradores (2013) utilizaram o piretróide d-fenotrina no controle dos ácaros, também na formulação *spray* com resultados superiores ao estudo com flumetrina, uma vez que obtiveram 100% de eficácia pelo mesmo período experimental, 35 dias. A metodologia utilizada empregou o piretróide não só nas orelhas, mas em todo o animal, o que aumentou a possibilidade de dispersão do produto. Assim como o trabalho de Melo e colaboradores (2008) não foi relatado o grau de infestação dos animais.

Apesar do piretróide flumetrina, assim como outros piretróide, apresentar altos níveis de eficácia, sua utilização aqui reportado não foi de 100%, possivelmente pela alta infestação que o animal apresentava, levando a formação de muitas crostas. Nesses casos, pode-se supor que a via *pour-on*, não seja a melhor escolha para o tratamento, mesmo sendo de maior praticidade para os tutores.

CONCLUSÃO

O piretróide flumetrina 1%, disponível comercialmente na apresentação *pour-on* na dose de 1mg/Kg administrada diretamente no conduto auditivo foi eficaz no controle de *P. ovis* em coelhos naturalmente infestados, sem causar nenhuma reação adversa nos animais tratados e com melhora clínica evidente.

REFERÊNCIAS

- Afonso T., Berdasco L., Medeiros T. & Rejowski M. Mercado pet em ascensão - Hotelaria para cães e gatos em São Paulo. *Revista Brasileira de Pesquisa em Turismo*, 2:102-123, 2008.
- Anadón A., Martínez-Larranaga M.R. & Martínez M.A. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. *Veterinary Journal*, 182:7-20, 2009.
- Akkaya H. & Perk C. The effect of 1% flumethrin (Bayticol "pour on") on ear scabies in cats caused *Otodectes cynotis*. *Turkish Journal of Parasitology*, 21:421-422, 1997.
- Chen L.P., Chung T.K. & Lin S.C. *Psoroptes cuniculi* infestation in rabbits in central Taiwan. *Journal of the Chinese Society of Veterinary Science*, 26:284-292, 2000.
- Fernandes J.I., Verocai G.G., Ribeiro F.A., Melo R.M., Correia T.R., Veiga C.C., Vieira V.P.C. & Scott F.B. Miticidal efficacy of an emulsion containing 10% neem (*Azadirachta indica*) oil for control of *Psoroptes ovis* in naturally infested rabbits. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32:1253-1256, 2012.
- Fernandes J.I., Verocai G.G., Ribeiro F.A., Melo R.M., Correia T.R., Coumendouros K. & Scott F.B. Efficacy of the d-phenothrin/pyriproxyfen association against mites in naturally co-infested rabbits. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33:597-600, 2013.
- Hoppmann E. & Barron H.M. Rodent Dermatology. *Journal of Exotic Medicine and Pet Medicine*, 16:238-255, 2007.
- Losson B.J. & Lonneux J.F. Field efficacy of flumethrin pour-on against *Psoroptes ovis* in cattle. *Veterinary Record*, 131:73-75, 1992.
- Marchiondo A.A., Holdsworth P.A., Fourie L.J., Rugg D., Hellmann K., Snyder D.E. & Dryden M.W. Guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestations on dogs and cats. 2nd ed. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. *Veterinary Parasitology*, 194:84-97, 2013.
- Manjunath S.M. & Kumar, P. Comparative efficacy of flumethrin and ivermectin against tick infestation in Deoni cattle. *Animal Science Reporter*, 6:36-40, 2012.
- Mehlhorn H., Schumacher B., Jatzlau A., Abdel-Ghaffar F., Al-Rasheid K.A. & Bhushan C. The effects of flumethrin (Bayticol® pour-on) on European ticks exposed to treated hairs of cattle and sheep. *Parasitology Research*, 110:2181-2186, 2012.
- Melo R.M.P.S., Fernandes J.I., Cruz V.P., Ribeiro F.A., Botelho M.C.S.N., Verocai G.G. & Scott F.B. Eficácia do piretróide permethrina no controle de *Psoroptes ovis* (Hering, 1838) (Acari: Psoroptidae) em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) naturalmente infestados. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17: 55-58, 2008.
- Moura B.B. Produção de Coelhos. Disponível em: <http://www.espacodoagricultor.rj.gov.br/pdf/criacoes/PRODUDECOELHOS.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2016.
- O'Brien D.J. Treatment of psoroptic mange with reference to epidemiology and history. *Veterinary Parasitology*, 83:177-185, 1999.
- Pan B., Wang M., Xu F., Wang Y., Dong Y. & Pan Z. Efficacy of an injectable formulation of eprinomectin against *Psoroptes cuniculi* the ear mange mite in rabbits. *Veterinary Parasitology*, 137:386-390, 2006.
- Sievers G. & Quintana L. Tratamiento de la sarna psoroptica bovina con flumetrina "pour-on". *Archivos de Medicina Veterinária*, 21:62-65, 1989.
- Taylor M.A. Recent developments in ectoparasiticides. *Veterinary Journal*, 161:253-268, 2001.
- Valentine W.M. Pyrethrin and pyrethroid insecticides. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 20:375-382, 1990.
- Yamada T., Ueda S., Yoshioka K., Kawamura S., Seki T., Okuno Y. & Mikami N. Lack of estrogenic or (anti-) androgenic effects of d-phenothrin in the uterotrophic and hersher berger assays. *Toxicology*, 186:227-239, 2003.
- Wall R. & Kolbe K. Taxonomic priority in *Psoroptes* mange mites: *P. ovis* or *P. equi*? *Experimental and Applied in Acarology*, 39:159-162, 2006.
- Watlinson I.A. Pyrethroids and the economics of pest management. *Pesticide Science*, 27:465-469, 1989.
- White S.D., Bourdeau P.J. & Meredith A. Dermatologic problems of rabbits. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 11:141-150, 2002.