

Uso de complexo homeopático reduz o parasitismo por carrapatos e amplia o intervalo de tempo entre tratamentos com acaricidas

Fagner L. da C. Freitas¹; Ana A.O. Kolcheski²; Rodrigo M. Souza²;
Lhais M. Vitorassi²; Wagner L. da C. Freitas³; Cesar A. Coutinho⁴; Renan A. Jesus⁵;
Luis A. Mathias^{6*}

Resumo

O presente trabalho avaliou a segurança e eficácia de 2 formulações homeopáticas no tratamento populacional de bovinos naturalmente parasitados com carrapatos da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Foram realizados 2 experimentos utilizando complexos homeopáticos distintos, ambos com 20 vacas adultas, raça holandesa, em diferentes estágios de lactação, distribuídas em grupo controle (n= 10) e grupo tratado (n= 10) num estudo randomizado com duplo cego. A contagem de carrapatos foi registrada nos dias 7, 14, 21 e 28 após o tratamento homeopático e, posteriormente, em intervalos de 15 dias até o dia 140 do Experimento 01 e o dia 197 do Experimento 02. A formulação homeopática utilizada no Experimento 01 apresentou eficácia de 21,1%, sendo necessária intervenção com tratamento convencional durante o período de 140 dias. A eficácia do complexo homeopático no Experimento 02 foi de 6,7%. Os resultados foram seguros e eficazes na terapia antiparasitária, tendo bons resultados quando complementados com o uso racional e correto de acaricidas.

Palavras-chave

Homeopatia populacional; Bovinos; Carrapatos; Estudo clínico aleatorizado, duplo cego, controlado

Homeopathic complex decreases tick parasitism and increases the interval between treatments with acaricides

Abstract

In the present study evaluated the efficacy of 2 homeopathic formulas in the treatment of cattle naturally with *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks. Two experiments were carried out using different combinations of homeopathic medicines, with 20 adult Holstein cows, in different stages of lactation, allocated to the control (n= 10) and treated (n= 10) groups in a randomized double-blind placebo-controlled trial. Tick count was performed on days 7, 14, 21 and 28 after homeopathic treatment, and then at 15-day intervals up to day 140 in Experiment 1 and day 197 in Experiment 2. Efficacy in Experiment 1 was 21.1%, while conventional intervention was required along the 140-day period. Efficacy in Experiment 2 was 6.7%. The results indicate that the tested homeopathic formulas were safe and efficacious, outcomes being satisfactory when homeopathic treatment was combined with rational and correct conventional treatment.

Keywords

Population-based homeopathic treatment; Cattle; Ticks; Randomized, double-blind, placebo-controlled trial

Médico veterinário, PhD, Professor adjunto IV, Universidade Federal da Fronteira Sul, PR, Brasil; Graduandos, medicina veterinária, UFFS; Professor, Universidade Tecnológica Federal do Paraná; Laboratório homeopático, Nutriphós; Professor, Faculdade de Ciências da Saúde de Unai (FACISA), MG, Brasil; Livre docente, Universidade Estadual Paulista, SP, Brasil. ✉ fagner.freitas@uffs.edu.br

Introdução

A homeopatia veterinária é um método alternativo utilizado no tratamento e controle de diversas enfermidades e distúrbios orgânicos em animais. A especialidade está baseada no princípio de semelhança, uso de microdoses de altas diluições e abordagem do doente em sua totalidade. A terapia homeopática em rebanhos brasileiros, homeopatia populacional, está em expansão devido à procura por produtos de origem animal livres de resíduos de fármacos alopatóicos.

Na bovinocultura brasileira, a especialidade homeopática é utilizada no tratamento e controle de infestações por artrópodes, verminoses, mastites, sodomia entre machos, papilomatose, diarreia, dermatites podais, intoxicações, distúrbios reprodutivos e imunodeficiências. Esses problemas, geralmente, são encontrados associados e representam um sério problema de saúde animal, devido ao grande número de bovinos acometidos e às várias alterações orgânicas que comprometem a produção.

Embora pesquisadores questionem os efeitos benéficos das formulações homeopáticas na saúde de seres humanos e animais [1,2], seu uso na bovinocultura é uma realidade com efeitos satisfatórios, principalmente, no tratamento e controle de enfermidades parasitárias, destacando-se as infestações por carrapatos da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* [3-6].

As infestações por carrapatos são tratadas com organoclorados, piretroides sintéticos, organofosforados, amidinas, fenilpirazóis, reguladores do crescimento de insetos e lactonas macrocíclicas [7]. Estes fármacos são selecionados conforme o manejo do animal, idade, peso, presença de gestação, tempo de descarte do leite e da carne e intensidade do parasitismo. Entretanto, o uso incorreto e indiscriminado, associado a falta de conhecimento, atitude e percepção sobre o ciclo do carrapato, gera casos de resistência parasitária e proporciona concentrações de resíduos químicos fora dos níveis aceitáveis pela legislação brasileira.

No intuito de contribuir para aplicação de uma terapia alternativa no controle de carrapatos *R. (B.) microplus* em vacas com aptidão leiteira, o presente trabalho objetivou avaliar a contagem de carrapatos, necessidade de complementação do tratamento homeopático com fármacos convencionais e eficácia do complexo homeopático utilizado, complementado ou não com tratamento convencional.

Material e métodos

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) (protocolo 23205.004377/2017-93).

Foram utilizadas vacas com aptidão leiteira criadas em 2 propriedades de agricultura familiar no município de Bela Vista de Caroba, Paraná, Brasil. As 2 propriedades apresentavam histórico de intenso parasitismo dos animais por carrapatos, registro mensal de 2 aplicações de acaricidas e infraestrutura composta por sala de ordenha com fosso, ordenhadeira mecanizada, tanque de resfriamento e sala de alimentação, sendo fornecido sal mineral como complementação alimentar.

No intuito de preservar a seriedade e a confiabilidade dos dados registrados, a pesquisa foi realizada em duplo cego, isto é, nem o coordenador da pesquisa nem as pessoas envolvidas nos experimentos tiveram conhecimento sobre a composição do produto administrado a cada animal. Os experimentos foram compostos por 2 tratamentos: Tratamento 01 (grupo controle), constituído por 10 animais (repetições), naturalmente infestados, tratados apenas com carbonato

de cálcio; e Tratamento 2 (grupo tratado), constituído por 10 animais, naturalmente infestados, tratados com compostos homeopáticos distintos para cada uma das propriedades.

Para garantir a homogeneidade dos grupos experimentais, a contagem de teleóginas de *R. (B.) microplus* foi realizada 3 dias antes do início do tratamento homeopático (dia -3). Esta contagem foi realizada no lado esquerdo do corpo do animal, considerando uma variação de tamanho entre 4,5 e 8 mm de comprimento (Figura 1). Posteriormente, os animais foram randomizados em ordem decrescente de infestação, conforme relacionado abaixo

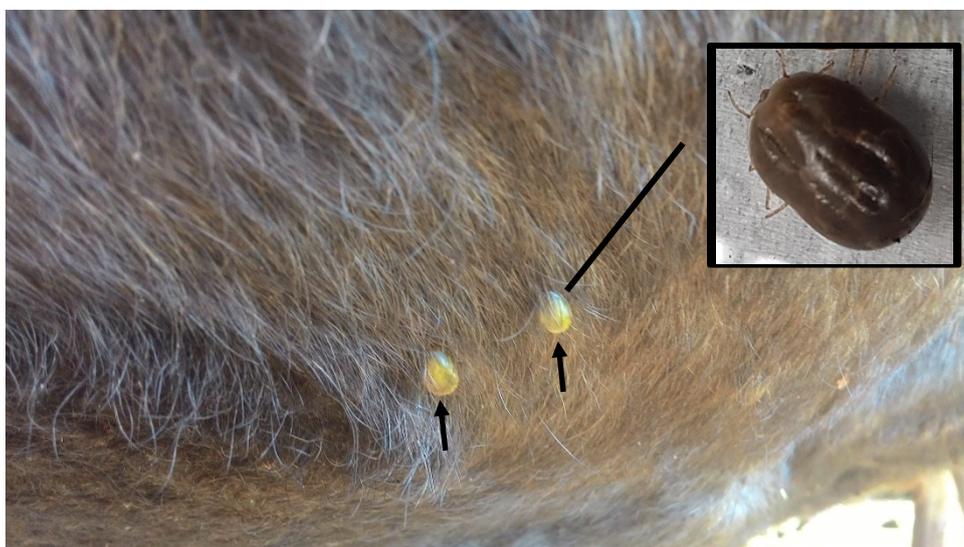


Figura 1. Parasitismo natural de vaca por teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (setas); a imagem ampliada mostra o padrão de teleóginas registradas na contagem do lado esquerdo do corpo do animal.

Experimento 01

Composto por 20 vacas adultas, raça holandesa, em diferentes estágios de lactação, distribuídas em grupo controle (n= 10) e grupo tratado (n= 10). O trabalho foi desenvolvido no período compreendido entre 10/10/2017 e 16/03/2018, numa propriedade com área total de 35 hectares (ha), sendo 15 ha com pastagem formada por *Cynodon* spp., *Tifton* sp., *Sorghum sudanense* e *Avena sativa*. A formulação homeopática, composta de *R. (B.) microplus* 30cH (1,5%), *Haematobia irritans* 30cH (1,5%), *Daphne mezereum* 6cH (1,0%) e *Rhus toxicodendron* 6cH (1,0%) foi fornecida ao grupo tratado em conjunto com a silagem de milho no cocho, na dose de 30 g/animal/dia, via oral, durante 140 dias.

Experimento 02

Composto por 20 vacas adultas, raça holandesa, em diferentes estágios de lactação, distribuídas em grupo controle (n= 10) e grupo tratado (n= 10). O trabalho foi desenvolvido no período compreendido entre 22/09/2017 e 07/04/2018, numa propriedade com área total de 21,1 ha, sendo 13 ha com pastagem formada por *Tifton* sp., *Panicum maximum* cv. *Aruana* sp., *Panicum maximum* cv. *Aries*, *S. sudanense* e *A. sativa*. A formulação homeopática, composta de *Absinthium seriphium* 30cH (0,5%), *R. (B.) microplus* 30cH (1,0%), *Cochliomyia hominivorax* 100cH (1,0%), *H. irritans* 200cH (1,0%), *Haemonchus contortus* 200cH (1,0%) e *Flores sulphuris* 15cH (0,5%), foi fornecida ao grupo tratado em conjunto com a silagem de milho no cocho, na dose de 30 g/animal/dia, via oral, durante 197 dias.

Em ambas as propriedades, os animais foram mantidos no mesmo piquete, no intuito de expô-los à mesma pressão parasitária. A contagem de carrapatos foi registrada nos dias 7, 14, 21 e 28 após o tratamento com homeopático e, posteriormente, em intervalos de 15 dias até o 140º dia no Experimento 01 e o 197º dia no Experimento 02.

As formulações homeopáticas utilizadas nos 2 experimentos foram preparadas de acordo com a Farmacopeia Homeopática Brasileira [8] e impregnadas em carbonato de cálcio até secagem.

A pesquisa seguiu as recomendações do item 2.4 da Portaria nº 48, de 12 de maio de 1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [9], preconizadas para fármacos convencionais, porém com período de avaliação superior a 30 dias.

Para o cálculo da eficácia, foi utilizada a seguinte fórmula: $[1 - (Ta \times Cb) \div (Tb \times Ca)] \times 100$, onde:

- Ta: número médio de teleóginas recuperadas dos animais tratados após a medicação;
- Tb: número médio de teleóginas recuperadas dos animais tratados nos 3 dias anteriores ao tratamento;
- Ca: número médio de teleóginas recuperadas dos animais controle no período pós-tratamento;
- Cb: número médio de teleóginas recuperadas dos animais controle nos 3 dias anteriores ao dia do tratamento.

Os parâmetros pesquisados foram: contagem de carrapatos/animal/dia experimental, necessidade de complementação do tratamento homeopático com fármacos convencionais e eficácia do complexo homeopático complementado ou não com tratamento convencional.

As hipóteses avaliadas foram:

- H₁: os tratamentos possuem efeitos semelhantes nos parâmetros avaliados na pesquisa;
- H₂: os tratamentos possuem efeitos diferentes nos parâmetros avaliados na pesquisa.

Os dados foram analisados usando o software R de duas maneiras diferentes:

- *Comparação entre os 2 grupos em cada dia do experimento*: inicialmente, foi obtida a normalidade dos dados dos 2 grupos, em cada dia, por meio do teste de Anderson Darling. Quando as 2 séries de dados apresentaram distribuição normal ($p > 0,05$) foi aplicado o teste F para comparação de variâncias, cujo resultado foi utilizado no teste seguinte, o teste t para comparação de 2 médias de dados não pareados. Caso pelo menos uma das 2 séries de dados não tivesse distribuição normal ($p < 0,05$), a comparação foi feita por método não paramétrico, usando o teste de Mann-Whitney.
- *Análise de variância não paramétrica para medidas repetidas*: os dados foram analisados pelo método descrito por Brunner e Langer [10], para observações longitudinais, utilizando o pacote “nparLD” do software R.

Resultados

Experimento 01

O Gráfico 1 apresenta a contagem média de carrapatos durante os 140 dias do experimento. Após o dia 0, foram observados 8 picos de infestação (7, 21, 28, 35, 49, 84, 126 e 140 dias) no grupo controle quando comparado com o grupo tratado com a formulação homeopática. Entretanto, a comparação entre os 2 grupos em cada dia do experimento não apresentou diferença significativa. A análise de variância não paramétrica para medidas repetidas

evidenciou ausência de interação ($p= 0,4067$) e ausência de diferença significativa entre grupo/dia ($p= 0,8455$), porém foi detectada diferença significativa entre os dias ($p= 8,68 \times 10^{-25}$).

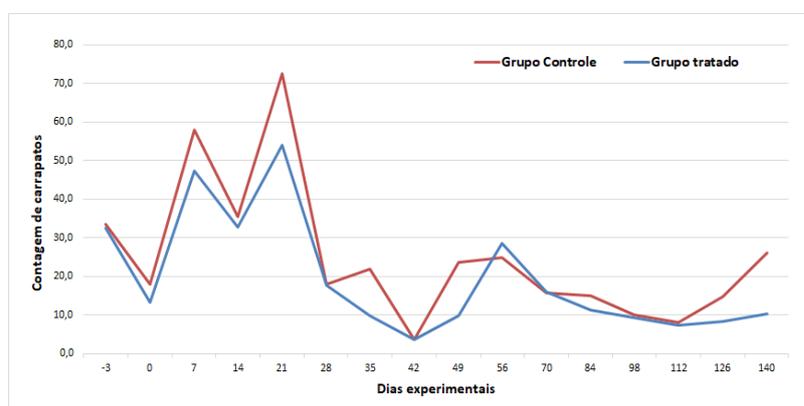


Gráfico 1- Contagem média de carrapatos em bovinos com aptidão leiteira infestados naturalmente e tratados com formulação homeopática composta por *R. (B.) microplus* 30cH (1,5%), *H. irritans* 30cH (1,5%), *D. mezereum* cH (1,0%) e *R. toxicodendron* 6cH (1,0%).

O parasitismo dos grupos experimentais, nos dias compreendidos entre -3 e 28, reduziu a produção de leite e exigiu intervenção terapêutica alopática nos dias 35 e 56, sendo aplicado flumetrina 1% (via *pour on*) e amitraz 10% (via pulverização), respectivamente. Esses fármacos foram selecionados por serem permitidos para uso em bovinos com aptidão leiteira sem necessidade de descarte do leite.

A complementação do tratamento dos animais experimentais com flumetrina 1% reduziu a infestação durante 7 dias no grupo controle e 14 dias no grupo tratado com o complexo homeopático. Ou seja, o intervalo até o segundo tratamento químico foi 100% maior nos animais tratados com homeopatia. Já o tratamento com amitraz 10% apresentou ação mais prolongada, reduzindo a infestação durante 70 dias no grupo controle 84 dias no grupo tratado com complexo homeopático. Ou seja, o intervalo de tempo até um terceiro tratamento químico foi 16,6% maior nos animais tratados com homeopatia.

Ao término do período experimental, a complementação do complexo homeopático com 2 tratamentos convencionais resultou numa eficácia de 21,1% quando comparado com o grupo controle. Não foram registradas reações adversas oriundas da ingestão do complexo homeopático e controle.

Experimento 02

O Gráfico 2 apresenta a contagem média de carrapatos durante os 197 dias do experimento. É possível observar 4 picos de infestação no grupo controle quando comparado com o grupo tratado com formulação homeopática. A comparação entre os 2 grupos, conforme o dia experimental, apresentou diferença significativa nos dias 70 ($p= 0,003$), 99 ($p= 0,018$) e 114 ($p= 0,022$). Nos demais dias, a diferença entre os 2 grupos não foi significativa. A análise de variância não paramétrica para medidas repetidas evidenciou ausência de interação entre os grupos experimentais ($p= 0,0524$) e entre grupo/dia ($p= 0,0541$). Foi detectada diferença significativa entre os dias experimentais ($p= 4,251 \times 10^{-27}$).

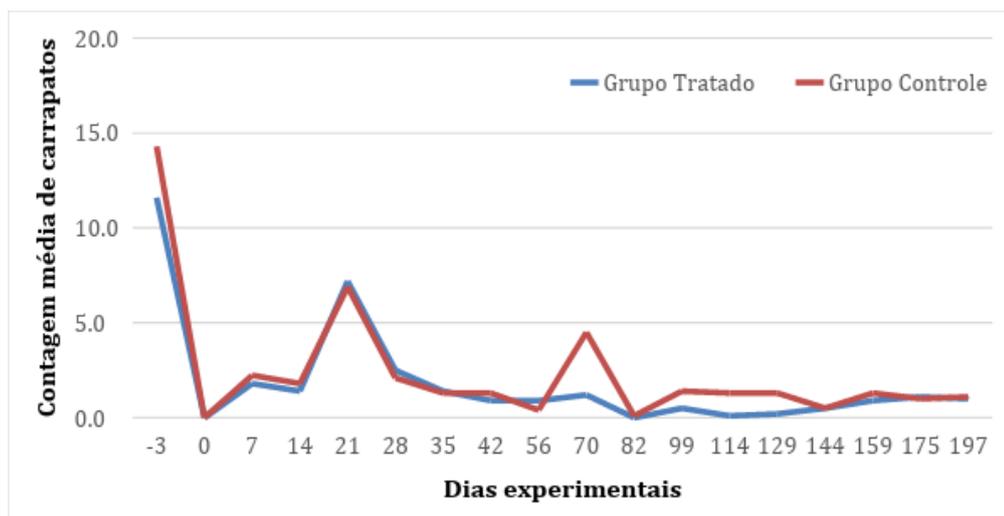


Gráfico 2- Contagem média de carrapatos em bovinos com aptidão leiteira infestados naturalmente e tratados com formulação homeopática composta por *A. seriphium* 30cH (0,5%), *R. (B.) microplus* 30cH (1,0%), *C. hominivorax* 100cH (1,0%), *H. irritans* 200cH (1,0%), *H. contortus* 200cH (1,0%) e *F. sulphuris* 15cH (0,5%).

É importante ressaltar que os valores obtidos nos picos parasitários foram inferiores ao valor preconizado para tratamento químico no território brasileiro (superior a 20 carrapatos), sendo desnecessária a aplicação de acaricidas.

Ao término do período experimental, o complexo homeopático resultou numa eficácia de 6,7% quando comparado com o grupo controle. Não foram registradas reações adversas oriundas da ingestão do complexo homeopático e controle.

Discussão

O parasitismo de bovinos por carrapatos possui causa multifatorial, estando diretamente ligado ao animal (sexo, idade, raça, genética, alimentação, estado nutricional e imunológico, infecções associadas e manejo), ambiente (área geográfica, área total da propriedade, área utilizada para agricultura, temperatura, número de bovinos por hectare, umidade, índice pluviométrico e vegetação) e parasito (espécie do parasito, intensidade de infestação e cepas parasitárias resistentes) [7]. Outros fatores também são considerados, tais como: grau de escolaridade/instrução do proprietário; ausência de quarentena após a aquisição de novos animais para o rebanho; presença e frequência de assistência técnica veterinária; número de aplicações, época do ano, modo de aplicação e critérios para uso de carrapaticidas [11].

Antes da realização da pesquisa, a propriedade envolvida no Experimento 01 apresentava registro de 2 aplicações mensais de acaricidas. No período de 140 dias experimentais (4,6 meses), a frequência de tratamento acaricida foi reduzida de 9 para 2 aplicações, ou seja, uma redução de 77,7%. A propriedade envolvida no Experimento 02 também realizava 2 aplicações mensais de acaricidas. No período de 197 dias experimentais (6,6 meses), a frequência do tratamento acaricida foi reduzida de 13 para zero, ou seja, uma redução de 100%. Essa redução no uso de acaricidas é de suma importância para a saúde única, devido à diminuição de casos envolvendo resistência parasitária, ocorrência de efeitos colaterais no corpo dos animais tratados e diminuição das concentrações de resíduos químicos no leite consumido pela população humana e animal, além de menor prejuízo financeiro oriundo da compra de acaricidas e do descarte do leite.

Os estudos relacionados ao uso de fármacos homeopáticos no tratamento de animais parasitados são escassos. Esse fator, associado à ausência de um protocolo experimental padrão para avaliar produtos homeopáticos em animais, dificultou a comparação dos nossos resultados com os dados publicados na literatura.

No experimento realizado com novilhas da raça Purunã, Silva et al. [3] observaram redução de 50,5% do número médio de teleóginas *R. (B.) microplus*, mas não informaram a composição da formulação e a infestação nos dias experimentais. No experimento realizado por Gazim et al. [4], em vacas com aptidão leiteira tratadas durante 3 meses com bioterápico de carrapato 30cH, foi observado decréscimo no número de teleóginas, oviposição e taxa de eclosão, ampliando, conseqüentemente, os intervalos entre a administração de fármacos convencionais. Costa Júnior e Furlong [5], após adaptação de bezerros zebuínos mestiços à preparação homeopática, infestaram os animais com 8.000 larvas de *R. (B.) microplus*, 2 vezes por semana, durante um período de 5 meses, obtendo uma eficácia de 26% ao término do período experimental. Santos et al. [6] testaram o medicamento homeopático preparado com larvas do *R. (B.) microplus* na dinamização 6cH, observando redução da infestação por teleóginas de 53,4%.

Os bioterápicos e medicamentos homeopáticos utilizados em nossa pesquisa foram selecionados devido a efeitos antineoplásicos e antioxidantes [12,13], ação antiparasitária [14,15] e anti-inflamatória [16-21] relatados para este tipo de medicamentos. Embora não existam evidências relacionadas a parâmetros imunológicos na literatura, é possível que os complexos homeopáticos testados tenham otimizado a resposta imunológica dos animais, potencializado as propriedades regeneradoras da pele reduzindo, conseqüentemente, a infestação dos animais e do pasto. Esta redução da infestação do pasto afetou, indiretamente, a pressão de parasitismo nos animais controle, tendo em vista o compartilhamento da mesma área pelos 2 grupos experimentais.

A próxima etapa da pesquisa estará relacionada ao estudo da biologia parasitária (oviposição, taxa de eclosão e sobrevivência de teleóginas), imunidade da pele e dosagem de proteínas de fase aguda da resposta inflamatória, visando a compreensão da participação de mediadores da resposta inflamatória em infestações.

Conclusão

Os complexos homeopáticos compostos por medicamentos bioterápicos e homeopáticos utilizados nos experimentos 01 e 02 apresentaram eficácia de 21,1% e 6,7%, respectivamente. As propriedades rurais que participaram dos experimentos 01 e 02 apresentaram redução na aplicação de acaricidas em 77,7% e 100%, respectivamente.

A complementação da terapia homeopática com o uso racional e correto de acaricidas reduziu a ocorrência de infestações nos animais e ampliou os intervalos entre os tratamentos convencionais.

Referências

1. Doehring C, Sundrum A. Efficacy of homeopathy in livestock according to peer-reviewed publications from 1981 to 2014. *Vet Rec.* 2016;179(628): 1-13.
2. Whitehead M, Chambers D, Lees P, Pelligand L, Toutain PL, Whiting M. The authors of 'Comparison of veterinary drugs and veterinary homeopathy: part 1 and 2', respond. *Vet Rec.* 2017;5(44): 457-458.

3. Silva NL, Moletta JL, Minho AP, Filippesen LF. Use of biotherapeutic in the control of natural infestation by *Boophilus microplus*: pilot study. *Int J High Dilution Res.* 2008;7(22): 36-38.
4. Gazim, ZC, Ferreira FBP, Silva AV, Bolognese KC. Efficiency study of the tick biotherapeutic in the infestation control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on dairy cows of the Dutch race. *Int J High Dilution Res.* 2010;9(33): 156-164.
5. Costa-Júnior LM, Furlong J. Efficiency of sulphur in garlic extract and non-sulphur homeopathy in the control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Med Vet Entomol.* 2000;25(1): 7-11.
6. Santos TRB, Aguiar CLG, Prestes L, Daneluz MO, Alves BF, Torres MIT. Avaliação da eficácia de produtos isoterápicos no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Arq Inst Biol.* 2015;82(1): 1-5.
7. Rodriguez-Vivas RI, Jonsson NN, Bhushan C. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitol Res.* 2018;117(1): 3-29.
8. Farmacopeia Homeopática Brasileira. 3ª ed. Brasília: ANVISA; 2011.
9. Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 48 de 12 de maio de 1997. Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. Diário Oficial da União [da] República Federativa do Brasil, Brasília-DF. Seção 1, p.10165.
10. Brunner E, Langer F. Nonparametric analysis of ordered categorical data in designs with longitudinal observations and small sample sizes. *Biom J.* 2000;42(6): 663-675.
11. Rocha CMBM, Bruhn FRP, Leite RC, Guimarães AM, Sampaio IB, Oliveira PR. *Braz J Vet Parasitol.* 2012; 21(3): 224-231.
12. Kupchan SM, Baxter RL. Mezerein: antileukemic principle isolated from *Daphne mezereum* L. *Science.* 1975;187(4177): 652-653.
13. Tundis R, Loizzo MR, Bonesi M, Peruzzi L, Efferth T. *Daphne striata* Tratt. and *D. mezereum* L.: a study of anti-proliferative activity towards human cancer cells and antioxidant properties. *Nat Prod Res.* 2018;12(1): 1-4.
14. Aleixo DL, Bonamin LV, Ferraz FN, Veiga FK, Araújo SM. Homeopathy in parasitic diseases. *Int J High Dilution Res.* 2014;13(46): 13-27.
15. Tariq KA, Chishti MZ, Ahmad F, Shawl AS. Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* against ovine nematodes. *Vet Parasitol.* 2009;160(1-2): 83-88.
16. Santos AL, Perazzo FF, Cardoso LGV, Carvalho JC. *In vivo* study of the anti-inflammatory effect of *Rhus toxicodendron*. *Homeopathy.* 2007;96(2): 95-101.
17. Huh YH, Kim MJ, Yeo MG. Homeopathic *Rhus toxicodendron* treatment increased the expression of cyclooxygenase-2 in primary cultured mouse chondrocytes. *Homeopathy.* 2013;102(4): 248-253.
18. Karp JC, Sanchez C, Guilbert P, Mina W, Demonceaux A, Curé H. Treatment with *Ruta graveolens* 5CH and *Rhus toxicodendron* 9CH may reduce joint pain and stiffness linked to aromatase inhibitors in women with early breast cancer: results of a pilot observational study. *Homeopathy.* 2016;105(4): 299-308.
19. Morris M, Pellow J, Solomon EM, Tsele-Tebakang T. Physiotherapy and a homeopathic complex for chronic low-back pain due to osteoarthritis: a randomized, controlled pilot study. *Altern Ther Health Med.* 2016;22(1): 48-56.
20. Rodionova OM, Glebov VV, Artamonova EV, Butenin MA, Anikina EV. Effect of herbal homeopathic monopreparations on the rate of tissue lymphatic drainage in healthy mice. *Bull Exp Biol Med.* 2016;161(6): 786-787.
21. Signore RJ. Prevention of poison ivy dermatitis with oral homeopathic *Rhus toxicodendron*. *Dermatol Online.* 2017;23(1): pii: 13030/qt3rm4r9hk.