



Ciência Rural

ISSN: 0103-8478

cienciarural@mail.ufsm.br

Universidade Federal de Santa Maria
Brasil

Gonçalves Gonçalves de, Isabel; Echevarria Menezes, Flavio Augusto
Cobre no controle da verminose gastrointestinal em ovinos
Ciência Rural, vol. 34, núm. 1, janeiro - fevereiro, 2004, pp. 183 - 188
Universidade Federal de Santa Maria
Santa Maria, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33134128>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Cobre no controle da verminose gastrointestinal em ovinos

Copper on the control of gastrointestinal nematodes in sheep

Isabel Gonçalves de Gonçalves¹ Flavio Augusto Menezes Echevarria²

RESUMO

*Este estudo teve o objetivo de verificar o tempo de proteção do cobre contra reinfecções por helmintos gastrintestinais de ovinos em pastejo. Foram utilizados 32 ovinos da raça Corriedale, com aproximadamente 18 meses de idade, mantidos em campo nativo naturalmente contaminado por trichostrongilídeos. Os animais foram pesados e dosificados. Após, foram alocados a quatro grupos experimentais: T_I (tratado com cobre e necropsiado no 28º dia); T_{II} (sem cobre e necropsiado no 28º dia); T_{III} (tratado com cobre e necropsiado no 56º dia); T_{IV} (sem cobre e necropsiado no 56º dia). Os grupos T_I e T_{III} receberam, via oral, uma cápsula gelatinosa de quatro gramas, contendo 3,4 gramas de óxido de cobre. Os ovinos foram avaliados semanalmente através de contagem de ovos por grama de fezes (OPG), volume globular (VG), aspartato aminotransferase (AST) e concentrações de cobre no plasma. Ao abate, foram determinados: carga parasitária, concentrações de cobre no fígado e peso dos fígados. Os resultados demonstraram que os níveis de cobre no plasma não tiveram alterações significativas (P>0,05) entre os diversos tratamentos. Quanto aos níveis de cobre detectados no fígado dos animais abatidos observou-se que os lotes medicados com cobre, apresentaram níveis mais elevados que os não medicados (P<0,05), porém dentro dos parâmetros considerados não tóxicos para ovinos. Também foi observado que os níveis de AST, nos grupos tratados com cobre, apresentaram durante todo o período experimental valores levemente superiores aos dos grupos controles, mas diferença significativa (P<0,05) foi detectada apenas entre T_I e T_{II}. Quanto à avaliação do OPG, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos (P>0,05). Com relação aos parasitos gastrintestinais, detectou-se que a administração de cobre contribuiu significativamente para uma menor reinfecção apenas pelo *Haemonchus contortus* e somente nos animais abatidos na quarta semana após o tratamento, quando a redução foi de 60% nos medicados (P<0,05). Estima-se que, neste experimento, o cobre não*

*atingiu níveis tóxicos nos animais já que não houve diferença significativa em VG, concentração plasmática de cobre, peso dos fígados e peso vivo (P>0,05). Com base nesses resultados, podemos concluir que 3,4 gramas de óxido de cobre podem ser efetivas na redução das reinfecções por *H. contortus*, durante quatro semanas sem causar toxicidade para ovinos criados extensivamente.*

Palavras-chave: cobre, nematódeos, *Haemonchus*, ovinos, controle.

ABSTRACT

*The aim of this work was to verify the possible activity of copper oxide wire particles against reinfection by gastrointestinal nematodes in sheep under extensive grazing. Thirty-two sheep, all wethers, aged 18 months and kept on native pastures naturally contaminated by trichostrongylides were used. The animals were weighed and treated with anthelmintics and then allocated to four experimental groups: T_I (treated with copper and necropsied on Day 28), T_{II} (untreated control and necropsied on Day 28), T_{III} (treated with copper and necropsied on Day 56), T_{IV} (untreated control and necropsied on Day 56). Groups T_I and T_{III} received, per os, a 4g bolus containing 3.4g of copper oxide wire particles. The animals were monitored, at weekly intervals, for faecal egg counts (EPG), packed cell volume (PCV), aspartate aminotransferase (AST) and plasma copper concentration. At necropsy, worm burdens, liver copper concentration and liver weights were determined. There were no differences in plasma copper levels between treatments (P>0.05). As for copper in the livers, all treated groups had higher levels than the untreated animals (P<0.05). Plasma AST activity was slightly higher during the experimental period in the treated groups. However, significant difference was only detected between treatments T_I and T_{II} (P<0.05). There were no significant differences in EPG counts between treated and control groups (P>0.05). Worm counting at necropsy revealed that copper was effective only against *Haemonchus contortus* and only in*

¹Médico Veterinário, do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS.

²Médico Veterinário, MSc, PhD, Laboratório de Helminologia, Embrapa Pecuária Sul, 96401-970, Bagé, RS. E-mail: echevarr@cppsul.embrapa.br. Autor para correspondência.

the animals slaughtered on Day 28^o where the reduction was 60% in comparison to the untreated group ($P<0.05$). It is believed that in this experiment copper did not reach toxic levels as there were no significant differences in PCV, plasma copper concentrations, liver weights and body weights ($P>0.05$). It is concluded that 3.4g of copper oxide wire particles can have a significant action in reducing reinfections by *H. contortus* during four weeks without toxicity to animals under conditions of extensive grazing.

Key words: copper, nematode, *Haemonchus*, sheep, control.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma população ovina de 16 a 17 milhões de animais, e 55% destes estão na Região Sul, no Rio Grande do Sul (RS) onde se concentram 95% dos ovinos lanados, sendo estes criados quase que exclusivamente em pastagem nativa e em associação com gado de corte (ECHEVARRIA, 1996a). O controle da verminose dos ruminantes baseia-se, principalmente no uso de anti-helmínticos e em alguns casos associado ao manejo das pastagens (PADILHA & MENDONZA, 1996). Já o controle integrado da verminose ovina (ECHEVARRIA, 1996b) preconiza o pastejo exclusivo com bovinos adultos por um período de quatro meses para redução do número de larvas infectantes; os cordeiros desmamados que entram nessas áreas devem receber duas medicações estratégicas com anti-helmíntico de largo espectro: uma ao adentrarem, e a segunda 60 dias após, além de serem, a partir deste momento, manejados com bovinos adultos. A partir desta segunda medicação, os animais devem ser monitorados através de exames parasitológicos.

No RS, a prevalência de resistência anti-helmíntica nos rebanhos ovinos representa um grave problema para o controle eficiente das helmintoses gastrintestinais (ECHEVARRIA et al., 1996). A resistência anti-helmíntica em nematódeos de ovinos se constitui no principal problema sanitário com que se defronta a indústria ovinícola no Brasil (ECHEVARRIA, 1996b). Esta situação não é diferente em outros países onde a resistência dos parasitos à maioria dos grupos químicos é uma realidade (SANGSTER, 1999). Devido a estes fatores, estudos vêm sendo realizados visando ao desenvolvimento de alternativas para reduzir o uso de anti-helmínticos no controle da gastroenterite verminótica, como o uso de fungos nematófagos (SAUMELL, 1998) e o emprego de minerais como o cobre, por exemplo (WALLER, 1998).

O cobre é um microelemento ou elemento traço, componente essencial em dezenas de sistemas enzimáticos, responsável por processos como produção de energia, ação anti-radicaais livres,

formação da melanina e da elastina (MOURA, 1997; BRIAN, 1997). Além disso, interfere na produção de hemoglobina, formação dos ossos, pigmentação do pêlo e da lã e também está envolvido no funcionamento do coração e do sistema nervoso central (GEORGIEVSKII et al., 1982; CARTILHA DO AGRICULTOR, 1982; KOLB, 1987; SILVA e BARUSELLI, 2001). Também ajuda no desenvolvimento de anticorpos e replicação de linfócitos (MOURA, 1997). Assim, pesquisadores da Nova Zelândia relataram que a administração oral de 4,1 gramas de partículas de óxido de cobre (COWP) para ovinos, acarreta uma redução significativa no número de parasitas recuperados na necropsia, com uma redução de 96% para *Haemonchus contortus* e 56% para *Ostertagia circumcincta* (BANG et al., 1990). Alguns autores descrevem que há uma diferença de susceptibilidade de acordo com as espécies de helmintos. O *H. contortus* é mais sensível do que outros nematódeos, sugerindo que a administração de COWP, além de causar aumento da mortalidade deste parasito, também resulta na fecundidade reduzida das fêmeas sobreviventes no hospedeiro (BREMNER, 1961; CHARTIER et al., 2000). O COWP consiste em um núcleo central de cobre puro recoberto com uma mistura de óxido cuproso e cúprico. Depois da administração oral, as cápsulas de COWP são dissolvidas no rúmem e as partículas então passam para o abomaso, e se alojam nas dobras da mucosa. Neste ambiente ácido, o cobre é liberado durante um longo período de tempo, sendo a solubilidade dos íons inorgânicos dependente do pH (LANGLANDS et al., 1989; NYMAN, 2000). De acordo com BANG et al. (1990), a suplementação com cobre em ovinos resultou em benefícios no combate aos parasitas abomasais. Trabalhos realizados no RS demonstraram a possibilidade de haver efeito dependendo da dose do cobre sobre os nematódeos do abomaso, sendo que a administração oral de 3,4 gramas de COWP foi mais efetiva para *O. circumcincta* enquanto a administração de 1,7 gramas COWP foi efetiva unicamente sobre o *Trichostrongylus axei*, não havendo efeito significativo sobre os nematódeos do intestino delgado. Os resultados mostraram que houve diferença significativa entre os grupos que receberam 3,4 gramas de COWP e o grupo controle com respeito a nematódeos abomasais, sugerindo que este microelemento pode ser incorporado como alternativa para a redução do uso de anti-helmínticos no controle da verminose ovina (NYMAN, 2000).

Tendo em vista a situação de resistência anti-helmíntica em ovinos, no RS, e a necessidade do desenvolvimento de métodos alternativos que possam

contribuir com a redução do uso de anti-helmínticos, foi desenvolvido o presente trabalho com o objetivo de verificar o tempo de proteção do cobre contra reinfecções por helmintos gastrintestinais de ovinos em pastejo.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado nos meses de fevereiro e março de 2000, na Embrapa Pecuária Sul, localizado no município de Bagé, RS, Brasil. A área experimental era composta de campo nativo com gramíneas, principalmente dos gêneros *Aristida*, *Eragrostis*, *Melica*, *Paspalum*, *Piptochaetium* e *Stipa* e leguminosas dos gêneros *Desmodium*, *Rhynchosia*, *Trifolium* e *Stylosanthes*.

Foram utilizados 32 ovinos da raça Corriedale, com aproximadamente 18 meses de idade, mantidos em campo nativo naturalmente contaminado por tricostrongilídeos e na lotação de 0,7UA/ha. Os animais experimentais foram identificados, pesados e dosificados, *per os*, com trichlorfon 100mg/kg e ivermectin 0,2mg/kg. Após, foram alocados em quatro grupos experimentais: T_I (tratado com cobre e necropsiado no 28º dia); T_{II} (sem cobre e necropsiado no 28º dia); T_{III} (tratado com cobre e necropsiado no 56º dia); T_{IV} (sem cobre e necropsiado no 56º dia). Os grupos medicados com cobre receberam, via oral, uma cápsula gelatinosa de quatro gramas contendo 3,4 gramas de óxido de cobre. Os ovinos foram monitorados semanalmente para determinação do número de ovos por grama de fezes (OPG), volume globular (VG), aspartato aminotransferase (AST) e concentrações de cobre no plasma. Ao abate, foram determinados: carga parasitária (UENO e GONÇALVES, 1998), concentrações de cobre no fígado e peso dos fígados. Na análise estatística, as cargas parasitárias encontradas nas necropsias e as contagens de OPG foram transformadas em log₁₀ (contagem +1) e submetidas à análise de variância e comparação múltipla de tratamentos (Newman Keuls Multiple Range Test), usando o programa computadorizado Animal Designs, G. Gettinby, University of Strathclyde, Glasgow, Escócia. Os demais dados foram submetidos ao mesmo procedimento sem as transformações logarítmicas. O VG foi transformado em raiz quadrada e submetido ao mesmo procedimento. Os dados de OPG, peso vivo e AST de todos os tratamentos foram analisados como quatro diferentes tratamentos até a necropsia realizada no 28º dia experimental. Já os dados dos T_{III} e T_{IV} foram avaliados desde o início até o 56º dia experimental. A concentração de cobre no fígado, peso e concentração

de cobre no plasma foi também submetida à ANOVA e comparação múltipla de tratamentos (Newman Keuls Multiple Range Test), sem as transformações logarítmicas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que os níveis de cobre no plasma não tiveram alterações significativas ($P>0,05$) entre os diversos tratamentos. Quanto aos níveis de cobre detectados no fígado dos animais abatidos (Tabela 1), observou-se, que os lotes medicados com cobre, apresentaram níveis mais elevados que os não medicados ($P<0,05$), mas ainda dentro dos parâmetros considerados não tóxicos para a espécie ovina que seria de 800ppm (ORTOLANI, 1996). Outros fatores monitorados, que levam a inferir que o cobre, neste experimento, não atingiu níveis tóxicos, foram a ausência de diferenças significativas ($P>0,05$) quanto ao volume globular e as concentrações de cobre no plasma. O peso dos fígados e peso vivo dos animais também não mostraram diferenças significativas (Tabela 1).

Em relação ao níveis de AST, os grupos tratados com cobre apresentaram durante todo o período experimental, valores levemente superiores aos grupos controles (Figura 1). Embora diferença significativa ($P<0,05$) tenha sido detectada apenas entre T_I e T_{II}. BANG et al. (1990) observaram que, em todos os grupos de ovinos tratados com 4,1 gramas de COWP, que a atividade no plasma de AST,

Tabela 1- Médias aritméticas e desvio padrão ($\pm dp$) do peso dos fígados e das concentrações de cobre no fígado (ppm) dos animais tratados com cobre (T_I e T_{III}) e controles (T_{II} e T_{IV}).

Tratamentos	Peso dos fígados (g)	Cobre (ppm)
T _I	368 ^a (± 129)	557 ^a (± 175)
T _{II}	390 ^a (± 44)	312 ^b (± 130)
T _{III}	378 ^a (± 127)	425 ^{ab} (± 240)
T _{IV}	378 ^a (± 127)	338 ^b (± 95)

1- Animais dos T_I e T_{II} necropsiados no 28º dia e dos T_{III} e T_{IV} no 56º dia experimental.

2- Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si ($P>0,05$).

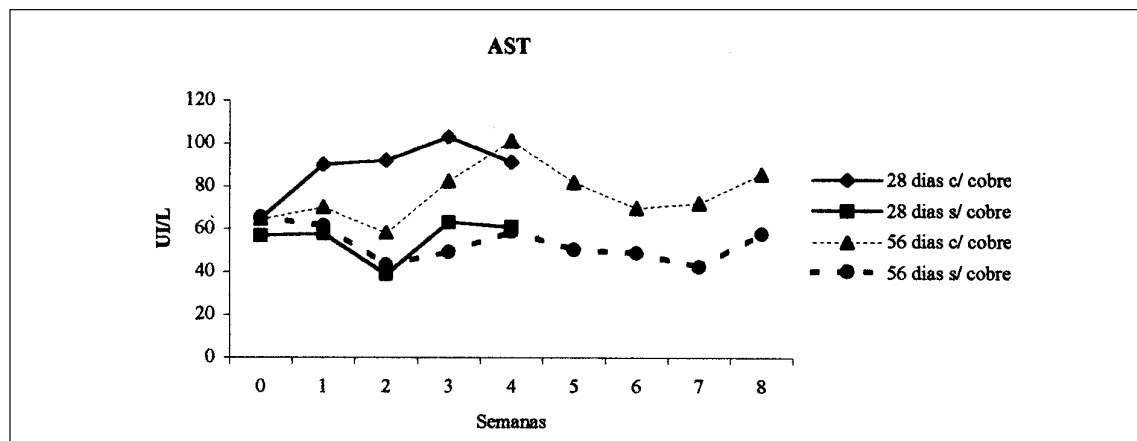


Figura 1 - Valores médios de aspartato aminotransferase (AST) dos animais tratados com cobre (T_I e T_{III}) e controles (T_{II} e T_{IV}) durante o período experimental.

apresentava-se levemente aumentada nas amostras finais, porém, este aumento não causava efeitos colaterais como redução do peso ou danos no fígado.

A avaliação da evolução do OPG dos animais medicados com cobre (T_I e T_{III}) revelou que estes apresentaram menores contagens que a daqueles não medicados (Figura 2). Entretanto, na análise estatística, os dados mostraram que estas diferenças não eram significativas entre os grupos ($P > 0,05$), devido à alta variabilidade nas contagens. O percentual de redução de OPG do grupo T_I com relação ao grupo T_{II} foi de 66% e do grupo T_{III} comparado ao T_{IV} de 81% quando avaliado ao final da quarta semana; já à oitava semana esta redução havia sido reduzida para 47,09%. No presente estudo, com relação aos parasitos gastrintestinais, detectou-se que a administração de

cobre contribuiu significativamente para uma menor reinfecção apenas pelo *H. contortus* e somente nos animais abatidos na quarta semana após o tratamento, quando a redução foi de 60% nos medicados ($P < 0,05$). Em relação aos demais helmintos gastrintestinais, as infecções foram baixas e com grande variabilidade tanto na necropsia do 28º dia como no 56º dia, o que inviabilizou conclusões mais precisas. Dentre os helmintos analisados, os dados mostram, claramente, uma predominância do *H. contortus* sobre os demais parasitos (Tabela 2).

BREMNER (1961) sugeriu que a administração de COWP, além de causar aumento da mortalidade do *H. contortus*, também resulta na fecundidade reduzida das fêmeas sobreviventes no hospedeiro. Neste estudo, as médias mostram que,

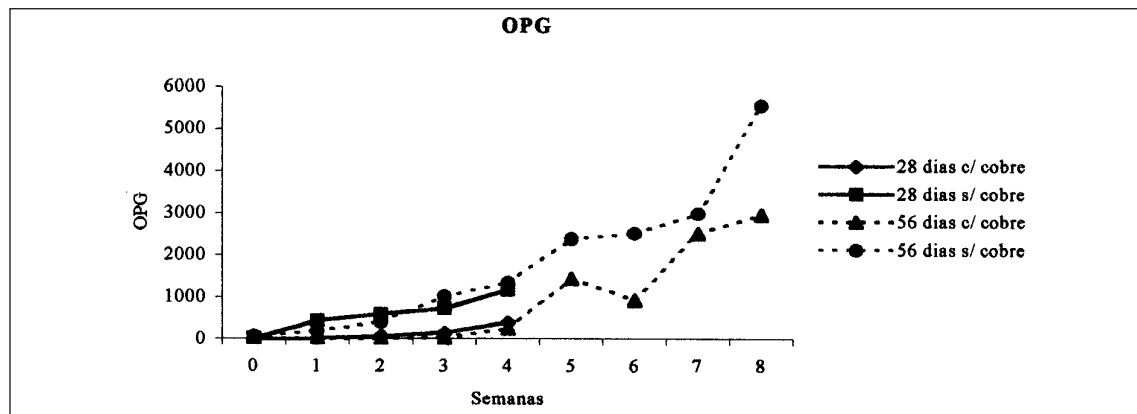


Figura 2 - Valores médios das contagens de ovos por grama de fezes (OPG) dos grupos tratados com cobre (T_I e T_{III}) e controles (T_{II} e T_{IV}) durante o período experimental.

Tabela 2 - Valores médios aritméticos e desvio padrão (\pm dp) da carga parasitária recuperada na necropsia dos animais tratados com cobre (T_I e T_{III}) e controles (T_{II} e T_{IV}).

Tratamentos	Helmintos								
		<i>H. contortus</i>	<i>Ostertagia spp.</i>	<i>T. axei</i>	<i>T. colubriformis</i>	<i>Cooperia spp.</i>	<i>N. spathiger</i>	<i>Trichuris ovis</i>	<i>O. venulosum</i>
T_I	Médias dp	334 ^a (\pm 187)	6 ^a (\pm 9)	0 ^a (\pm 0)	36 ^a (\pm 76)	14 ^a (\pm 25)	0 ^a (\pm 0)	0 ^a (\pm 0)	1 ^a (\pm 1)
T_{II}	Médias dp	829 ^b (\pm 598)	36 ^a (\pm 61)	15 ^a (\pm 25)	96 ^{ab} (\pm 116)	10 ^a (\pm 14)	0 ^a (\pm 0)	0 ^a (\pm 0)	2 ^a (\pm 3)
T_{III}	Médias dp	2050 ^c (\pm 920)	51 ^b (\pm 57)	56 ^a (\pm 120)	366 ^{ab} (\pm 621)	16 ^a (\pm 19)	10 ^a (\pm 19)	0 ^a (\pm 1)	15 ^a (\pm 12)
T_{IV}	Médias dp	1753 ^c (\pm 1106)	43 ^{ab} (\pm 31)	21 ^a (\pm 29)	344 ^b (\pm 353)	33 ^a (\pm 38)	6 ^a (\pm 11)	2 ^a (\pm 4)	10 ^a (\pm 8)

1 - Animais dos T_I e T_{II} necropsiados no 28^o dia e dos T_{III} e T_{IV} no 56^o dia experimental.

2 - Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si ($P>0,05$)

com 56 dias, não houve uma contribuição significativa do uso do cobre como moderador no número de ovos. NYMAN (2000) observou um efeito do cobre na redução do OPG e contagem de parasitos recuperados no abomaso dos ovinos tratados com COWP, nas primeiras duas semanas após sua administração. Alguns autores testaram a eficácia do uso de óxido de cobre para o controle de parasitos nematódeos resistentes aos benzimidazóis em cabras leiteiras; os resultados demonstraram uma eficácia de 75% na redução da carga de *H. contortus*, assim como houve uma menor produção de ovos de 37-95%, durante o estabelecimento de novas infecções por várias semanas (CHARTIER et al., 2000).

CONCLUSÕES

O uso de 3,4 gramas de óxido de cobre, para ovinos manejados extensivamente, não causa toxicidade e pode ser auxiliar no controle do *H. contortus*, considerado o parasito de maior importância na região Sul do Brasil, protegendo contra reinfecções por até quatro semanas.

Ação do cobre em outros parasitos precisa ser determinada sob condições de maior desafio.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Bayer do Brasil pelo financiamento das análises de concentrações de cobre no fígado e plasma, realizadas na Embrapa Gado de Corte e ao CNPq pela bolsa de formação de pesquisador II - Mestrado concedida à autora principal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANG, K.S.; FAMINTON, A.S.; SYKES, A.R. Effect of copper oxide wire particle treatment on establishment of major gastrointestinal nematodes in lambs. **Research in Veterinary Science**, v.49, p.132-137, 1990.
- BREMNER, K.C. The copper status of some helminth parasites, with particular reference to host-helminth relationships in the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.12, p.1188-1199, 1961.
- BRIAN, B. **Mineral nutrition in sheep**. Agriculture and Rural representative, Gore bay, OMAFRA, 1997. Capturado em 14 maio. 2001. Online. Disponível em: <http://www.bireme.br>.
- CARTILHA DO AGRICULTOR. **Os Animais**: Publicação da Secretaria da agricultura. 2.ed. Porto Alegre : Corag, 1982. V.4, p.556.
- CHARTIER S.C. et al. Efficacy of copper oxide needles for the control of nematode parasites in dairy goat. **Veterinary Research Communications** v.24, n.6, p.389-99, 2000.
- ECHEVARRIA, F.A.M. Epidemiologia de nematódeos e o controle estratégico em ovinos lanados. In: PADILHA, T. **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes**. Coronel Pacheco : EMBRAPA - CNPGL, 1996a. p.157-168.
- ECHEVARRIA, F.A.M. Estratégias de controle da verminose em ovinos-como driblar o problema da resistência. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE DE PARASITOS, 1., 1996, Campinas. **Anais...** Campinas : CATI, 1996b. p.64-78.
- ECHEVARRIA, F.A.M. et al. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin

America: Brasil. **Veterinary Parasitology**, v.62, p.199-206, 1996.

GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N.; SAMOKHIN, V.I. **Studies in the agricultural and food sciences**. Mineral Nutrition of animals. London : Butterworth, 1982. 475p.

KOLB, E. **Fisiologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1987. 611p.

LANGLANDS, J.P. et al. Trace element nutrition of grazing ruminants. III^o. Copper oxide powder as a copper supplement. **Australian Journal Agricultural Research**, v.40, p.187-193, 1989.

MOURA, J.G.P. **A Revolução dos nutrientes**: um estudo sobre radicais livres, vitaminas, minerais e sua avaliação no exame do cabelo. Pelotas : Mundial, 1997. 265p.

NYMAN, H. **Alternative methods of treating gastrointestinal nematodes in sheep, using *Duddingtonia flagrans* and copper wire particles**. Uppsala, Sweeden : Swedish University of Agricultural Sciences, 2000. 54p. (Minor Field Studies. April, 2000. n.99).

ORTOLANI, E.L. Intoxicações e doenças metabólicas em ovinos: intoxicação cúprica, urolitíase e toxemia da prenhez. In: SILVA SOBRINO, A.G. **Nutrição de ovinos**. Jaboticabal: Funep, 1996. 258p.

PADILHA, T.; MENDONZA, P.G. Controle microbiano de formas de vida livre dos nematódeos trichostrongilídeos: uma alternativa para a higienização das pastagens. In: _____. **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes**. Coronel Pacheco : EMBRAPA-CNPGL, 1996. p.215-235.

SANGSTER, N.C. Anthelmintic resistance: past, present and future. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.115-124, 1999.

SAUMELL, C.A. **Colonização de bolos fecais bovinos e fezes ovinas por fungos nematófagos e sua ocorrência em fezes frescas bovinas nas Zona da Mata de Minas Gerais**. 1998. 175f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Curso de Pós-graduação em Parasitologia do Instituto de Ciência Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

SILVA, S.; BARUSELLI, M.S. **Os dez mandamentos da suplementação mineral**. Guaíba : Agropecuária 2001. 106p.

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para o diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Salvador : Press Color, 1998. 143p.

WALLER, P.J. International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.155-164, 1998.