

RIPRODUZIONE BOVINA

Ritenzione di placenta: patogenesi, diagnosi e terapia

Giovanni Gnemmi, Cristina Maraboli

Veterinari liberi professionisti, Bovinevet, Premosello Chiovenda (VB)

RIASSUNTO

La ritenzione di placenta è un problema molto serio nell'allevamento bovino. Si tratta di una patologia dell'apparato riproduttore che può avere origini molto diverse: malattie infettive, disturbi metabolici, deficienze nutrizionali o piani nutrizionali inadeguati. Possiamo definire la ritenzione delle membrane fetali una sorta di sintomo dello stato della mandria: ogni qual volta l'incidenza aumenta, significa che la mandria sta soffrendo e che la gestione del transition cow è in qualche modo deficitario.

Parole chiave: riproduzione, ritenzione, placenta, bovino.

SUMMARY

Placental retention: pathogenesis, diagnosis and therapy

Placental retention is a very serious problem in bovine breeding. It is a pathology of the reproductive system having very different origins: infectious diseases, metabolic disorders, nutritional deficiencies or inappropriate dietary management. Placental retention could be defined as a kind of symptom of the herd status: when its incidence increases, it means that the herd is suffering and the transition cow management is somehow deficient.

Keywords: reproduction, retention, placenta, bovine.

La ritenzione di placenta è un problema molto serio nell'allevamento bovino, sia esso destinato alla produzione di latte o di carne (foto 1). Si tratta di una patologia dell'apparato riproduttore, che ha però origini assai lontane: malattie infettive, disturbi metabolici, deficienze nutrizionali o piani nutrizionali inadeguati (scarsa qualità dei foraggi e/o dei concentrati) sono tutti fattori che possono indurre una elevata incidenza di questa patologia. Possiamo definire la ritenzione delle membrane fetali una sorta di sintomo dello stato della mandria: ogni qual volta l'incidenza aumenta, significa che la mandria sta soffrendo e che la gestione del *transition cow* difetta da qualche parte. La ritenzione di placenta comporta una perdita di oltre 300 [20] e un allungamento del periodo parto-inseminazione di 11-26 giorni; questo si traduce in una riduzione secca del *pregnancy rate* anche di 3-6 punti percentuali [4]. La ritenzione placentare, inol-

tre, predispone facilmente alla metrite settica puerperale e in generale alla metrite clinica e alle diverse forme di endometrite; queste complicanze, fanno della ritenzione di placenta una sorta di "osservatorio speciale" nell'allevamento bovino. In questo articolo gli autori analizzano l'eziologia, la patogenesi, la sintomatologia e la terapia della ritenzione delle membrane fetale nel bovino (finestra 1).

Quando si può parlare di ritenzione di placenta?

La placenta in condizioni normali viene espulsa entro 3-8 ore (finestra 2), mentre si parla di ritenzione di placenta quando essa non viene eliminata entro 12-24 ore dopo il parto [1,2,5] (foto 2). Talora la ritenzione non è completa, ma parziale: in questo caso possono permanere porzioni di membrane all'apice del corno uterino che ha ospitato la gravidanza [1].



Foto 1. La ritenzione di placenta è un grave problema dell'allevamento bovino, da latte e da carne.

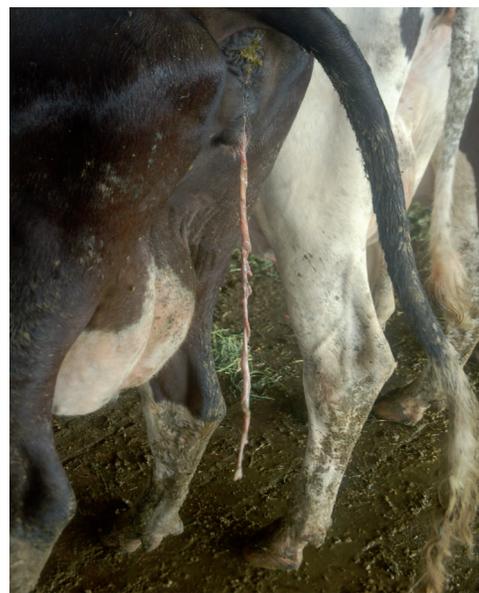


Foto 2. Si parla di ritenzione placentare se la placenta non viene eliminata entro 12-24 ore dal parto.



FINESTRA 1. La Placenta Bovina

La placenta bovina è una semiplacenta multipla di tipo cotiledonario, sindesmocoriale [2]. I placentomi sono disposti su 3-4 file, secondo la lunghezza delle corna e del corpo dell'utero [2]. I placentomi sono costituiti da una parte fetale, i cotiledoni (estroflessioni della membrana allantoicoriale), e da una parte materna, le caruncole [2]. Il collegamento tra madre e feto avviene a livello di allantoicorion, una membrana assai vascolarizzata. I cotiledoni incappucciano le caruncole, mentre i villi si inseriscono profondamente nelle cripte caruncolari [2]. L'insieme della caruncola e del cotiledone forma il placentoma, vera unità funzionale della placenta. Essi sono in numero variabile da 60 a 120 e localizzati, per la maggior parte, nell'utero gravido.

FINESTRA 2. Distacco della placenta: meccanismi fisiologici

Verso la fine della gestazione, si assiste a un progressivo accumulo di collagene nei cotiledoni: i placentomi vanno incontro a una fibrosi sempre più accentuata ai margini delle cripte [1,2]. Negli ultimi giorni di gravidanza, i villi coriali si separano dalle cripte caruncolari: in pratica sempre maggiore spazio si interpone tra la placenta materna e quella fetale. A partire dalle cripte prossime al peduncolo della caruncola, il numero delle cellule epiteliali delle cripte stesse va rapidamente diminuendo [1,2]. Compaiono grandi cellule binucleate, mentre al contempo si rendono evidenti grandi cellule polinucleate con spiccata funzione fagocitaria [1]. L'aumento di glucocorticoidi e di estrogeni all'inizio del parto è responsabile dell'edema dei tessuti in generale, e dei placentomi in particolare. Si tratta di processo essenziale per la normale espulsione delle membrane fetali [1,2]. Durante la prima e la seconda tappa del parto, la pressione intrauterina cambia in continuazione, alternando momenti di ischemia e di iperemia a livello cotiledonario [1,2].

Il processo di distacco si completa dopo l'espulsione del feto: grazie alle contrazioni uterine il processo involutivo dell'utero prende il via, con una sostanziale diminuzione di volume dei placentomi. La forma delle caruncole cambia (si riduce la grandezza del peduncolo) e si ha un rilasciamento-allargamento delle cripte. Subito dopo il parto, la rottura del cordone ombelicale comporta un'emorragia placentare; i villi coriali si rilasciano e si riduce la superficie di contatto con le cripte caruncolari. Si staccano poi completamente dall'epitelio materno, a livello delle cripte [1,2]. A partire dall'apice del corno uterino ex gravido si ha un invaginamento delle membrane fetali: inizia l'espulsione della placenta.

1. Epidemiologia

La ritenzione di placenta è più frequente nelle bovine da latte che in quelle da carne. L'incidenza della ritenzione di placenta in assenza di problematiche al parto è del 3-15% (media 8,6%) [1,5], mentre in presenza di distocia, parto gemellare, parto cesareo, aborto e parto prematuro, o in caso di infezioni batteriche (brucellosi, salmonellosi) o virali (rinotracheite infettiva) [1,2,5], così come nel parto indotto [5], l'incidenza può arrivare al 20-30%, e finanche al 50-80% [1,2]. Con l'aumento dell'età della bovina, cresce anche il rischio di ritenzione delle membrane fetali [3,5]. Si tratta, inoltre, di un evento assai più frequente nei mesi caldi.

Le bovine che presentano ritenzione di placenta, hanno una predisposizione alla recidiva di questa condizione nei parti successivi [5]; è infatti stata dimostrata una predisposizione familiare sia sulla linea materna che paterna.

2. Etiologia

Sono molti gli eventi che portano alla ritenzione delle membrane fetali. L'incidenza della patologia aumenta enormemente

in caso di aborto, morte neonatale, gravidanze multiple, distocia, torsione uterina (si ha un disturbo circolatorio a livello di placentoma, che comporta iperemia e edema dei villi coriali, con conseguente aumento di volume), stress da caldo, idroalantoide, ipocalcemia nel periparto, parto prematuro (placentomi immaturi, gestazione prolungata) [2,5]. Anche l'induzione del parto è un fattore causale importante, ma va fatto un distinguo sulla base delle procedure utilizzate. In caso si utilizzino dei corticosteroidi ad azione rapida, l'incidenza della ritenzione delle membrane fetali è molto alta, 56-70% [6,7], in quanto non si completa la maturazione fetale della placenta: i corticosteroidi inducono una caduta di progesterone materno, che porta a una secrezione placentare di estrogeni molto inferiore al normale. Se invece si utilizza un differente protocollo di induzione che prevede l'associazione di un corticosteroide ritardo (desametasone trimetilacetato) al 270° giorno di gravidanza e dopo 6 giorni di somministra un desametasone non retard, l'incidenza di ritenzione di placenta è molto bassa. Lo stesso problema di ritenzione di placenta si ha quan-

do l'induzione viene realizzata con prostaglandine, siano esse naturali o sintetiche. L'associazione di prostaglandine e corticosteroidi permette di ottenere un'eccellente sincronizzazione del parto, ma ha come controindicazione un'elevata incidenza di ritenzione di placenta [6,7]; questa può essere diminuita, quando si ricorre alla somministrazione di corticosteroidi ritardato (al 270° giorno di gravidanza) seguita, dopo 6 giorni, da un desametasone normale e da prostaglandina. Si ottiene così che la ritenzione delle membrane fetali sia tra il 13 e il 29% [6,7].

I problemi nutrizionali, specialmente nel *transition*, sono molto importanti: vacche molto magre, o molto grasse, sono soggette alla ritenzione delle membrane fetali. La carenza di vitamina E, di selenio e di beta carotene rappresentano altre cause importanti [5]. L'iniezione di 3.000 UI di vitamina E, una settimana prima del parto, ridurrebbe l'incidenza di ritenzione delle membrane fetali e delle altre patologie riproduttive puerperali, in particolare se a beneficiare del trattamento sono le primipare [8]. Questo effetto sarebbe visibile, però, solamente su quelle bovine, che non ricevono un'adeguata supplementazione di vitamina E. L'ipocalcemia (soprattutto indotta da un eccesso di potassio nella dieta del *transition*), è stata associata alla ritenzione di placenta, in quanto agirebbe riducendo la contrazione del miometrio [10], anche se si tratta di una teoria che sembrerebbe ormai superata. Burton, nel 1987 [5], evidenziò che le bovine con ritenzione di placenta avevano una contrattilità uterina maggiore rispetto alle bovine che non presentavano ritenzione. Di certo l'ipocalcemia incrementa la liberazione di cortisolo fetale al parto: questo potrebbe agire inducendo un'immunosoppressione responsabile della mancata separazione delle membrane fetali. L'ipocalcemia contribuisce a deprimere lo stato immunitario dell'animale, anche riducendo la funzione delle cellule mononucleate

Carenze proteiche e di fosforo, come la carenza di iodio, sono state indicate essere possibili cause di ritenzione delle membrane fetali [10].

Negli ultimi anni, molto si è detto e scritto a proposito di un effetto positivo, sulla riduzione della ritenzione di placenta, della supplementazione con acido linoleico e linolenico. I risultati sono controversi: trattamenti nelle quattro settimane precedenti il parto non avrebbero infatti indotto una significativa riduzione dell'incidenza di ritenzione delle membrane fetali [9].

Tra le cause infettive, va ricordata la brucellosi, che induce una placentite necrotica specifica, con fibrosi della giunzione uterocoriale [2].

3. Patogenesi

Le bovine con ritenzione di placenta sono sempre immunodepresse. Già nel 1984, Gunnink dimostrò il ruolo chemiotattico dei placentomi, che risultò fondamentale, per la normale separazione delle membrane fetali (ruolo mediato dalla interleuchina-8, IL-8). Infatti, i leucociti degli animali che sviluppano ritenzione rispondono in misura minore all'azione chemiotattica del placentoma. Questa alterazione dei leucociti è già evidente due settimane prima del parto e persiste anche subito dopo. I neutrofili di vacche affette da ritenzione di placenta, presentano una minore sensibilità nei confronti della chemiotassi indotta dal placentoma e una minore attività mieloperoxidasica in tutto il periparto [11]. Le vacche, con o senza ritenzione di placenta, hanno livelli di progesterone simili, mentre il picco dell'estradiolo 17 β , è più basso nelle vacche con ritenzione di placenta [12,13,14]. Nelle vacche con ritenzione placentare, i livelli al parto di cortisolo sono più alti, mentre i livelli di PGF2 α sono più bassi; il rapporto PGE2:PGF2 α è più elevato [5].

In condizioni di bilancio energetico negativo o, più in generale, in condizioni di stress nel periparto, aumenta la produzione di PGE2 e di cortisolo, il che spiega l'aumento di ritenzione di placenta; questo probabilmente è mediato dall'effetto negativo della PGE2 sulla attività dei granulociti neutrofili

Le bovine con ritenzione di placenta presentano una diminuita attività antiossidante, una minore attività perossidasica (glutazione perossidasi) e un'alterata funzione della superossido dismutasi [5]; trova quindi una spiegazione l'effetto positivo esercitato da vitamina E e selenio che, come antiossidanti, limitano gli effetti negativi sopra menzionati, agendo anche direttamente sulla funzione dei neutrofili.

Nelle vacche che svilupperanno metrite si è notata una diminuzione della funzione dei neutrofili già due settimane prima del parto e sembrerebbe che questa situazione venga mediata dall'interleuchina 8 (IL-8).

4. Sintomatologia

Il sintomo principale è dato dalla presenza della placenta che fuoriesce dalla rima vulvare. In alcuni casi, però, la placenta non sporge dalla rima e questi sono i casi





più insidiosi che, per essere identificati, necessitano sempre di una esplorazione vaginale, realizzata nel rispetto delle procedure igieniche. L'esame ultrasonografico non è di alcun aiuto nella diagnosi di ritenzione di placenta nella bovina. La presenza di rialzo termico non è costante: oltre un 30% delle bovine con ritenzione di placenta non presenta infatti febbre.

5. Terapia

Nel 1995, un report della British Cattle Association [15] sosteneva che oltre il 90% delle ritenzioni di placenta veniva risolto con l'estrazione manuale.

Quando una placenta protrude dalla vulva sarebbe buona norma inglobarla all'interno di un guanto da esplorazione rettale, al fine di ridurre la contaminazione della mammella. Non tutti gli autori sono peraltro concordi nel sostenere che sia utile recidere la porzione placentare esposta: il peso della stessa contribuirebbe infatti a facilitarne il distacco.

L'estrazione manuale della placenta non comporta alcun vantaggio prognostico, ma esercita sicuramente ancora un valore psicologico su una parte degli allevatori. Occorre rispettare alla lettera un protocollo di detersione-disinfezione della regione vulvare, l'applicazione del quale richiede alcuni minuti.

La terapia antibiotica intrauterina non comporta alcun vantaggio rispetto alla terapia sistemica, ma la sua esecuzione necessita di un tempo più prolungato, in quanto vanno applicati i protocolli igienici sopra menzionati. Inoltre non va dimenticato che l'attraversamento della cervice spesso può avvenire solo dopo una forzatura, ovvero inducendo la formazione di microtraumi che, se infettati, sono responsabili di cervicitis, spesso molto gravi, soprattutto perché rimangono subcliniche.

La terapia antibiotica generale, in assenza di estrazione manuale della placenta, ad oggi rimane pertanto il metodo in grado di garantire il miglior risultato [15,16]. La terapia antibiotica va limitata ai soli animali che presentano rialzo termico ($\geq 39,5^\circ\text{C}$), al fine di evitare trattamenti antibiotici inutili [5]. È chiaro che un simile approccio è applicabile laddove esiste un allevatore attento, che tiene monitorati gli animali subito dopo il parto, più volte nell'arco della giornata. La scarsa sensibilità verso questo tipo di approccio ha portato molti veterinari a adottare un trattamento antibiotico preventivo, al fine di limitare le conseguenze, talvolta presenti, in caso di ritenzione di placenta.

Sulla scelta dell'antibiotico o chemioterapico da impiegare si è molto discusso. Gli autori ritengono che la scelta della terapia antibiotica o chemioterapica debba essere fatta sempre tenendo in considerazione primariamente l'efficacia del trattamento e quindi il rapporto costo-beneficio della terapia stessa.

Il trattamento con cefalosporine è stato in grado di ridurre l'incidenza di metrite settica, ma non ha indotto alcun miglioramento sulle performance riproduttive nelle bovine trattate, quando poste a confronto con animali non trattati o trattati con estradiolo cipionato [17].

I trattamenti intrauterini con ossitetraclina sono in grado di ridurre l'incidenza di febbre, ma anche non hanno nessuno effetto sulle performance riproduttive degli animali trattati [18]; in particolare, le tetracicline sono in grado di inibire le metalloproteinasi (proteinasi extracellulari zinco-dipendenti), ovvero di prolungare la ritenzione delle membrane fetali [5].

I trattamenti con amoxicillina, con associazioni di amoxicillina e acido clavulanico, e penicillina, per almeno tre giorni, garantiscono oggi il miglior compromesso tra efficacia e costo-beneficio. Altri agenti terapeutici, come le ampicilline, sono difficilmente proponibili nell'allevamento moderno per la necessità di ricorrere a 2-4 somministrazioni giornaliere.

Il trattamento con ossitocina garantisce un buon risultato nelle prime 24 ore, dopo di che l'effetto del farmaco si perde. Inoltre, anche per questa categoria di farmaci, un limite è rappresentato dalla frequenza di somministrazioni: 2-6 somministrazioni nelle 24 ore, a seconda che si utilizzi una formulazione ritardo oppure un'ossitocina tradizionale.

Le prostaglandine sono il vero grande "problema" nella ritenzione di placenta: utilizzarle o non utilizzarle? E, se si utilizzano, quali prostaglandine utilizzare: naturali o artificiali? Le prostaglandine, secondo alcune ricerche [5] accelerano l'involutione uterina, ma non determinano alcun miglioramento delle performance riproduttive (come peraltro dimostrato per l'ossitocina). Altri autori [22] ritengono invece che il ruolo delle prostaglandine sia determinante: nelle bovine con ritenzione, effettivamente la concentrazione di PGFM sarebbe più alta rispetto alle bovine senza ritenzione, ma questa concentrazione, sarebbe anche meno duratura. Da qui la necessità di ricorrere a una somministrazione esterna di prostaglandina. Il loro uso è vincolato a una sorta di "atto di fede": at-

tualmente sono utilizzate nella terapia della ritenzione di placenta e della metrite settica dalla maggior parte dei veterinari e allevatori di tutto il mondo, ma nessuna prova scientifica ne ha mai dimostrato l'effettiva efficacia in modo inequivocabile. Tutti, infatti, fondano la propria legittima convinzione, solamente "sull'impressione". Le uniche prostaglandine per le quali è stata dimostrata l'efficacia uterotonica sono quelle naturali; normalmente si utilizzano nella ritenzione di placenta al 50% della dose impiegata come luteolitici (sia che si utilizzino prostaglandine naturali o sintetiche).

Per altri farmaci, come le associazioni ergometrina-serotonina, valgono le stesse considerazioni fatte per le prostaglandine: nessuna prova scientifica ne dimostra l'effettiva efficacia.

Il ricorso agli antinfiammatori non steroidei il giorno del parto è sconsigliabile: incrementerebbero infatti l'incidenza sia di ritenzione di placenta sia di metrite puerperale [19].

La somministrazione di collagenasi, effettivamente può ridurre l'incidenza di ritenzione di placenta, ma solo in pazienti sottoposti a parto cesareo. In queste bovine, la somministrazione di 200.000 UI di collagenasi, in 1 litro di soluzione fisiologica, iniettati nelle arterie ombelicali, ha per-

messo di ridurre significativamente l'incidenza di ritenzione. Ovviamente l'applicabilità in campo di questa tecnica è molto difficile [21].

Conclusioni

La ritenzione di placenta è una patologia che non va mai trascurata. Individualmente va supportata con un'adeguata terapia, onde evitare la sequela di disturbi riproduttivi connessi (metrite settica puerperale, metrite clinica, endometrite, ecc.) e le patologie metaboliche alle quali predispone (chetosi, dislocazione abomasale, sindrome da minor produzione, ecc.). Allo stesso tempo, il problema deve essere analizzato a livello di mandria: è infatti il segnale di una serie di problematiche (gestionali, nutrizionali, *housing*, ecc.), che stanno interessando la mandria e sulle quali è bene intervenire il più precocemente possibile, al fine di limitare i danni collaterali. A tal proposito, è consigliabile un attento monitoraggio della mandria nel *transition*, indipendentemente dalle dimensioni: in particolare l'introduzione di test come il dosaggio dei NEFA e dell'BHB nell'ultima settimana di gestazione possono fornire utilissime informazioni relativamente alla futura incidenza della ritenzione di placenta e delle altre patologie puerperali. ■

Bibliografia

- 1- Grunert E. In Current Therapy in theriogenology 2nd. Ed. Saunders. 1986: pp. 237-242.
- 2- Sali G. In Manuale di Teriogenologia Bovina 1996: pp. 233-244.
- 3- Bottarelli F. Fertilità e Infertilità Bovina. Tep Veterinaria. 1989: p. 147.
- 4- Overton M., Fetrow J.. Economic Postpartum Uterine Health. 2008 Dairy Cattle Reproduction Council Convention. Omaha Nebraska.
- 5- Gilbert R.O. Postpartum Uterine Health and Disease. 2008 Dairy Cattle Reproduction Council Convention. Omaha Nebraska.
- 6- Buttut J., Bruyas J. F., Fieni F., Tainturier D. Il parto: meccanismo fisiologico e controllo farmacologico. Summa. 1997; vol. 14, n. 9: pp. 39-46.
- 7- Barth A.D. In Current Therapy in theriogenology 2nd ed. Saunders 1986: pp. 209-214.
- 8- LeBlanc S.J., Duffield T.F., Leslie K.E. The Effect of Prepartum Injection of Vitamin E on Health in Transition Dairy Cows. J. Dairy Sci. 2002; vol. 85: pp. 1416-1426.
- 9- Kemp B., Soede N.M., Kankofer M., Beveres M., Taverne M.A.M., Wensing Th., Noordhuizen J.P.T.M. Influence of linoleic/linolenic acid ratio in the diet of periparturient cattle on plasma concentrations of PGF₂ metabolite and placental expulsion rate. Theriogenology. 1998; vol. 49: pp. 571-580.
- 10- Oetzel G.R. Dry period nutritional management and peripartum disease prevention. 30th Annual Convention AABP Seminar 16. September 17, 1997 Montreal Quebec.
- 11- Kimura K., Goff J.P., Kehrl E., Reinhardt T.A. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. J. Dairy Sci. 2002; vol. 85: pp. 544-550.
- 12- Shah K. D., Nakao T., Kubota H., Maeda T. Peripartum changes on plasma estrone sulfate and estradiol 17 β profiles associated with and without the retention of fetal membranes in Holstein-friesian cattle. J. Reprod. Devel. 2007; vol. 53: pp. 279-288.
- 13- Takagi M., Fujimoto S., Ohtani M., Miyamoto A., Wijagunawardane M.P., Acosta T.J., Miyazawa K., Sato K. Bovine retained placenta: hormonal concentrations in fetal and maternal placenta. Anim. Reprod. Sci. 2002; vol. 23: pp. 429-437.
- 14- A. Wischeral, I. T. Verreschi, S. B. Lima, L. F. Hayashi, R. C. Barnabe. 2001. Pre parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. Anim. Reprod. Sci. 67: 181-188.
- 15- M. Drillich, A. Pftzner, H. J. Sabin, W. Heuwiesere. 2003. Comparison of two protocols for the treatment of retained fetal membranes in dairy cattle. Theriogenology 59: 951-960.
- 16- M. Drillich, U. Reichert, M. Mahlsted, W. Heuwiesere. 2006. Comparison of two strategies for systemic antibiotic treatment of dairy cows with retained fetal membranes: preventive vs. selective treatment. J. Dairy Sci. 89: 1502-1508.
- 17- Risco C. A., Hernandez J. Comparison of cefotiofur hydrochloride and estradiol cypionate for metritis prevention and reproductive performances in dairy cows affected with retained fetal membranes. Theriogenology. 2001; vol. 60: pp. 47-58.
- 18- Goshen T., Shpigiel N.Y. Evaluation of intrauterine antibiotic treatment of clinical metritis and retained fetal membranes in dairy cows. Theriogenology. 2006; vol. 66: pp. 2210-2218.
- 19- Duffield F., Dingwell H.P., Skidmore A., Weary D., Neuder L., Rapheal W., Millman S., Newby N., Leslie K. 2009. Effect of flunixin meglumine treatment following parturition on cow health and milk production. AABP Proceedings vol. 42 September 2009. Omaha Nebraska.
- 20- Galligan D.T., Ferguson J. Prevention and treatment of postpartum diseases. Penn Conference 1996.
- 21- Eiler H., Wan P. Y., Valk N., Fecteau K. A. Prevention of retained placenta by injection of collagenase into umbilical arteries of calves delivered by cesarean section: a tolerance study. Theriogenology. 1997; vol. 48: pp. 1147-1152.
- 22- Nakao T., Gamal A., Osawa T., Nakada K., Moriyoshi M., Kawata K. Postpartum plasma PGF metabolite profile in cows with dystocia and/or retained placenta and effect of fenprostalene on uterine involution and reproductive performance. J. Vet. Med. Sci. 1997; vol. 59, n. 9: pp. 791-794.