

Научная статья

УДК 619:616.995.1-085

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-335-340>

Оценка эффективности антигельминтиков из класса бензимидазолов на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота

Иван Алексеевич Архипов¹, Анастасия Ивановна Варламова²,
Александр Валерьевич Радионов³

¹⁻³Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹arkhipovhelm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5165-0706>

²arsphoeb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8364-5055>

³alexander.radionov@nutreco.com

Аннотация

Цель исследований – изучить эффективность антигельминтиков из класса бензимидазолов на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Оценка эффективности препаратов из класса бензимидазолов на ранние стадии развития нематод пищеварительного тракта проводили в хозяйствах Московской области, неблагополучных по нематодозам, на 58 бычках в возрасте 12–18 мес., спонтанно инвазированных стронгилятами пищеварительного тракта. Животных взвешивали, нумеровали и разделили на опытные и контрольные группы по 7–10 голов в каждой. Бычкам разных опытных групп назначали перорально однократно в дозе 7,5 мг/кг по ДВ панакур, фебтал, фенбендазол (субстанции), альбен, альвет, вальбазен, клозальбен и альбендазол 10%-ный порошок. Животные контрольной группы препарат не получали. Эффективность препаратов учитывали в опытах типа «контрольный тест» по результатам копроовоскопических исследований по методу флотации с использованием счетной камеры ВИГИС, а также по результатам гельминтологических вскрытий пищеварительного тракта животных по 3–5 голов с каждой группы. Эффективность препаратов учитывали согласно «Руководству, одобренному Всемирной Ассоциацией за прогресс ветеринарной паразитологии (1995). Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. Установлена 94,4–97,2%-ная эффективность препаратов на основе бензимидазолов – панакура, фебтала, альбена, альвета, вальбазена и клозальбена в терапевтических дозах против имагинальных стронгилят пищеварительного тракта и 44,2–69,2%-ная активность против личинок нематод.

Ключевые слова: антигельминтики, бензимидазолы, эффективность, стронгилята, бычки

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Архипов И. А., Варламова А. И., Радионов А. В. Оценка эффективности антигельминтиков из класса бензимидазолов на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 335–340.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-335-340>

© Архипов И. А., Варламова А. И., Радионов А. В., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Evaluation of the efficacy of benzimidazole anthelmintics against different stages of gastrointestinal nematodes of young cattle

Ivan A. Arkhipov¹, Anastasiya I. Varlamova², Aleksandr V. Radionov³

¹⁻³All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russia

¹arkhipovhelm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5165-0706>

²arsphoeb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8364-5055>

³alexander.radionov@nutreco.com

Abstract

The purpose of the research is to study the efficacy of benzimidazole anthelmintics against different development stages of gastrointestinal nematodes of young cattle.

Materials and methods. The efficacy of benzimidazole drugs against early development stages of gastrointestinal nematodes was evaluated on 58 male calves aged 12–18 months spontaneously infected with gastrointestinal strongylates on the Moscow Region farms contaminated by nematode parasites. The animals were weighed, numbered and divided into experimental and control groups of 7–10 animals each. The male calves from different experimental groups were orally administered Panacur, Febtal, Fenbendazole (substance), Alben, Alvet, Valbazen, Closalben and Albendazole 10% powder once at a dose of 7.5 mg/kg for the active substance. The control animals did not receive the drug. The drug efficacy was recorded in the experiments of the “control test” type based on the coproscopic examination results by the flotation method using a VIGIS counting chamber, and on the results of helminthological dissections of the digestive tract of 3–5 animals from each group. The drug efficacy was recorded as per the Guidelines Approved by the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (1995). The results were processed statistically using the Microsoft Excel computer tool.

Results and discussion. We established the 94.4–97.2% efficacy of the drugs based on benzimidazoles, namely, Panacur, Febtal, Alben, Alvet, Valbazen and Closalben in therapeutic doses against imaginal gastrointestinal strongylates and 44.2–69.2% activity against nematode larvae.

Keywords: anthelmintics, benzimidazoles, efficacy, Strongylata, male calves

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Arkhipov I. A., Varlamova A. I., Radionov A. V. Evaluation of the efficacy of benzimidazole anthelmintics against different stages of gastrointestinal nematodes of young cattle. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 335–340. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-335-340>

© Arkhipov I. A., Varlamova A. I., Radionov A. V., 2022

Введение

Одним из резервов повышения продуктивности крупного рогатого скота является предотвращение экономического ущерба, причиняемого нематодами вследствие падежа и значительного снижения темпов роста, развития молодняка, а также количества и качества продукции [3, 6, 8, 9].

По нашим данным, в последние годы нематодозы в средней полосе России получили

широкое распространение, что, по-видимому, обусловлено рядом антропогенных факторов, в том числе нежеланием или неспособностью владельцев животных проводить лечебно-профилактические мероприятия из-за скудного финансового положения. Государство не финансирует проведение плановых профилактических дегельминтизаций.

Одним из основных методов борьбы с нематодозами крупного рогатого скота является

химиотерапия с применением высокоэффективных препаратов. Для этого часто используют препараты из класса бензимидазол карбаматов: фенбендазол и альбендазол [2, 12, 16]. Препараты в дозе 7,5 мг/кг по ДВ обладают высокой эффективностью против имагинальных стронгилят пищеварительного тракта [1, 2, 7, 10]. Однако, данные по их эффективности на личиночные стадии нематод весьма ограничены.

В связи с этим, целью наших исследований было изучение эффективности лекарственных форм фенбендазола и альбендазола на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота.

Материалы и методы

Оценку эффективности препаратов из класса бензимидазолов на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта проводили в 2009–2010 гг. в разных хозяйствах Московской области, неблагополучных по нематодозам, на 58 головах молодняка крупного рогатого скота. В опыты подбирали спонтанно инвазированных животных по результатам исследований проб фекалий методом флотации с учетом числа яиц нематод в 1 г фекалий. Животных взвешивали, нумеровали и разделяли на подопытные и контрольные группы по 7–10 голов в каждой.

Крупному рогатому скоту подопытных групп назначали перорально однократно препараты на основе фенбендазола в дозе 7,5 мг/кг: панакур производства фирмы «ВИК» в форме 22,2%-ного гранулята, фебтал производства фирмы «Агроветзащита» в форме 22,2%-ного гранулята, а также фенбендазол в форме субстанции 99%-ного порошка производства КНР.

Препараты на основе альбендазола испытывали в дозе 7,5 мг/кг по ДВ однократно перорально при даче с концентрированным кормом: альбен производства фирмы «Агроветзащита» в форме 10%-ного гранулята, альвет («Нита-Фарм») в форме 10%-ного гранулята, вальбазен («Пфайзер», США) в форме 2,5%-ной суспензии, клозальбен («ВИК») в форме 5%-ного порошка, альбендазол («Веттрейд») в форме 10%-ного порошка. Животные контрольной группы препарат не получали.

Эффективность препаратов учитывали в опытах типа «контрольный тест» по результатам копроовоскопических исследований животных по методу флотации до и через 18–20 сут после применения препаратов. При этом использовали счетную камеру ВИГИС для учета числа яиц нематод в 1 г фекалий. Кроме того, эффективность препаратов учитывали по результатам гельминтологических вскрытий пищеварительного тракта крупного рогатого скота по 3–5 голов с каждой группы. Действие препаратов против личинок нематод учитывали по результатам компрессорного исследования соскобов со слизистой оболочки кишечника.

Личинок нематод идентифицировали до рода по критериям, описанным В. Н. Трачом (1982). Эффективность препаратов рассчитывали согласно «Руководству, одобренному Всемирной Ассоциацией за прогресс ветеринарной паразитологии» (1995 г.) [17].

Результаты и обсуждение

Результаты испытания препаратов на основе бензимидазолов на разные стадии нематод пищеварительного тракта приведены в таблице и свидетельствуют о высокой их эффективности против имагинальных нематод и недостаточной активности против личинок стронгилят. Эффективность против взрослых *Ostertagia* spp. составила панакура 97,2%, фебтала 96,9, альбена, альвета 96,3, вальбазена 96,6 и клозальбена 97,2%. Активность этих препаратов против личинок остертагий оказалась равной 59,1–66,7%. Против имагинальных *Trichostrongylus* spp. эффективность была равной панакура 94,8%, фебтала 94,4, альбена и альвета 95,1, вальбазена и клозальбена 95,5%. Активность препаратов против личинок была ниже и составила 73,0–79,4%. Незначительная разница в эффективности препаратов оказалась против взрослых *Nematodirus* spp. (97,4–97,9%), а против личинок активность была почти в 2 раза ниже (44,2–60,5%). Против имагинальных *Haemonchus* sp. эффективность составила панакура 96,3%, фебтала 96,0, альбена 95,3, альвета 94,9, вальбазена 95,3, клозальбена 96,3%, а против личинок гемонхов активность была равной 66,0–69,2%.

Следует отметить, что все препараты в испытанной дозе хорошо переносились животными.

Таблица [Table]

Эффективность препаратов на основе бензимидазолов в дозе 7,5 мг/кг при стронгилятозах пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота

[The effectiveness of drugs based on benzimidazoles at a dose of 7.5 mg/kg at strongylatoses of the digestive tract of young cattle]

Препарат [Drug]	Число животных в группе [Number of animals in the group]	Обнаружено нематод родов [Nematode genera detected]						ИЭ (%) против [IE against]									
		Ostertagia		Trichostrongylus		Nematodirus		Haemonchus		Ostertagia		Trichostrongylus		Nematodirus		Haemonchus	
		имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]
Панакур	10	1,0±0,3	2,3±0,6	1,4±0,5	1,3±0,3	1,3±0,5	2,0±0,7	1,0±0,3	1,7±0,4	97,2	65,2	94,8	79,4	97,9	53,5	96,3	68,0
Фебтал	9	1,1±0,3	2,7±0,7	1,5±0,6	1,3±0,3	1,4±0,5	1,7±0,6	1,1±0,3	1,7±0,4	96,9	59,1	94,4	79,4	97,7	60,5	96,0	68,0
Альбен	8	1,3±0,5	2,2±0,7	1,3±0,5	1,6±0,5	1,5±0,5	2,4±0,7	1,3±0,4	1,6±0,6	96,3	66,7	95,1	74,6	97,6	44,2	95,3	69,2
Альвет	9	1,3±0,4	2,3±0,7	1,3±0,5	1,6±0,6	1,5±0,6	2,2±0,7	1,4±0,5	1,7±0,6	96,3	65,2	95,1	74,6	97,6	48,9	94,9	68,0
Вальбазен	7	1,2±0,4	2,4±0,7	1,2±0,4	1,7±0,6	1,6±0,5	2,0±0,6	1,3±0,4	1,8±0,7	96,6	63,6	95,5	73,0	97,4	53,5	95,3	66,0
Клоазальбен	8	1,0±0,3	2,4±0,7	1,2±0,4	1,7±0,6	1,4±0,5	2,1±0,7	1,0±0,3	1,6±0,6	97,2	63,6	95,5	73,0	97,7	51,2	96,3	69,2
Контрольная группа [Control group]	7	35,3±5,4	6,6±1,3	26,7±4,6	6,3±0,9	61,2±4,7	4,3±1,3	27,3±3,3	5,3±1,3	-	-	-	-	-	-	-	-

У животных контрольной группы обнаружили, в среднем, 35,3±5,4 взрослых *Ostertagia ostertagi* и 6,6±1,3 экз. личинок остертагий, 26,7±4,6 взрослых *Trichostrongylus colubriformis* и 6,3±0,9 экз. личинок трихостронгилюсов, 61,2±4,7 взрослых *Nematodirus spathiger* и 4,3±1,3 экз. личинок нематодирусов, 27,3±3,3 взрослых *Nematodirus contortus* и 5,3±1,3 экз. личинок гемонхусов.

Заключение

Анализ полученных результатов показал, что практически все препараты из класса бензимидазол карбаматов показали высокую эффективность (94,4–97,9%) против имагинальных желудочно-кишечных стронгилят и недостаточную активность против личинок нематод (44,2–79,4%). Все антигельминтики хорошо переносились животными. Полученные нами данные согласуются с результатами предыдущих исследователей и указывают на высокую эффективность фенбендазола и других препаратов [4, 5, 12, 14, 15].

Так, на экспериментально и спонтанно инвазированном нематодами крупном рогатом скоте фенбендазол снижал число личинок 4-й стадии на 96%, кооперий на 100, *Ostertagia ostertagi* на 98, *Trichostrongylus axei* на 90% [11]. Многие авторы при испытании препаратов не оценивали их действие на разные стадии нематод.

Таким образом, при стронгилятозах пищеварительного тракта предложено большое число препаратов, которые обладают высокой эффективностью против имагинальных нематод и активны против личинок.

Список источников

1. *Архипов И. А.* Эффективность валбазена против фасциолеза, диктиокаулеза, мониезиоза и стронгилятозов желудочно-кишечного тракта овец // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. 1996. Вып. 56. С. 8-11.
2. *Архипов И. А.* Антигельминтики: фармакология и применение. М., 2009. 415 с.
3. *Дурдусов С. Д., Архипов И. А.* Эффективность некоторых антгельминтиков при смешанных нематодозах молодняка крупного рогатого скота // Материалы научной конференции Всероссийского общества гельминтологов РАН. 1995. С. 66-67.
4. *Магомедов О. А.* Эффективность фенбендазола при буностамозе и нематодозе овец // Бюллетень всесоюзного института гельминтологии. 1984. Вып. 39. С. 31-33.
5. *Мамаев Н. Х., Шамхалов В. М., Голин Б. Н., Магомедов О. А.* Брикетты при стронгилятозах и анаплазоцефалитозах // Ветеринария. 1990. 7. С. 44-45.
6. *Огородников А. В.* Нематодозы крупного рогатого скота Среднего Предуралья и обоснование оптимальных схем дегельминтизации: автореф. дис. ... канд. вет. наук. М., 2001. 26 с.
7. *Резяпки И. Н.* Эффективность препарата альбен форте-суспензия при гельминтозах крупного рогатого скота // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: материалы научной конференции. 2012. Вып. 13. С. 335-338.
8. *Садов К. М.* Ассоциативные паразитарные болезни крупного рогатого скота и разработка рациональной системы борьбы с ними в условиях Среднего Поволжья: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Иваново, 2008. 44 с.
9. *Самобочий А. В.* Эпизоотологическая характеристика гельминтозов крупного рогатого скота и меры борьбы с ним на юге Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. вет. наук. 2001. 23 с.
10. *Anwar A. H., Hayat C. S., Amir M. I.* Prevalence of gastrointestinal helminthiasis and comparative efficacy of anthelmintics in parasitized buffalo calves. Pakistan Vet. J. 1996; 16 (4): 160-163.
11. *Callinan A. P., Cummins L. I.* Efficacy of anthelmintics against cattle nematodes. Austral. Vet. J. 1979; 55 (8): 370-373.
12. *Campbell W. C.* Chemotherapy of parasitic diseases / W. C. Campbell, R. S. Rew. New York and London: Springer, 1986; 655.
13. *Duwell D.* Anthelmintic efficacy of mebendazole and fenbendazole in ruminants. Pest. Sci. 1980; 9 (3): 550-555.
14. *Kutzer E., Prosl H., Frey H.* Anthelmintic wirkung fenbendazole gegen parasiten von rind. Dtsch. tierarztl. Wochenschr. 1974; 81 (1): 112-119.
15. *Mariner S., Armour J.* Nematode infections of domestic animals: gastrointestinal infections / In Chemotherapy of Parasitic Diseases., Edit. W. C. Campbell, P. S. Rew. 1986; 297-300.
16. *Riviere J. E., Papich V. G.* Veterinary pharmacology and therapeutics. Hoboken: 9 th ed.: Willey Blackwell. 2009; 317.
17. *Wood I., Amaral N., Bairden K. et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). J. Vet. Parasitol. 1995; 58 (3): 181-213.

Статья поступила в редакцию 15.05.2022; принята к публикации 18.07.2022

Об авторах:

Архипов Иван Алексеевич, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, профессор, ORCID ID: 0000-0001-5165-0706, arkipovhelm@mail.ru

Варламова Анастасия Ивановна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат ветеринарных наук, ORCID ID: 0000-0001-8364-5055, arspheob@mail.ru

Радионон Александр Валерьевич, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат ветеринарных наук, alexander.radionov@nutreco.com

Вклад соавторов:

Архипов Иван Алексеевич – научное руководство, проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка статьи.

Варламова Анастасия Ивановна – анализ и интерпретация полученных данных, критический анализ материала, подготовка статьи.

Радионон Александр Валерьевич – проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Arkhipov I. A. Efficiency of valbazen against fascioliasis, dictyocaulosis, monieziasis and strongylatosis of the sheep gastrointestinal tract. *Byulleten' Vsesoyuznogo instituta gel'mintologii = Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology*. 1996; 56: 8-11. (In Russ.)
2. Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and application. M., 2009; 415. (In Russ.)
3. Durdusov S. D., Arkhipov I. A. Some anthelmintic efficacy against mixed nematode infections of young cattle. *Materialy nauchnoy konferentsii Vserossiyskogo obshchestva gel'mintologov RAN = Proceedings of the Scientific Conference of the All-Russian Society of Helminthologists of the Russian Academy of Sciences*. 1995; 66-67. (In Russ.)
4. Magomedov O. A. The efficacy of fenbendazole against bunostomosis and nematodosis of sheep. *Byulleten' Vsesoyuznogo instituta gel'mintologii = Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology*. 1984; 39: 31-33. (In Russ.)
5. Mamayev N. Kh., Shamkhalov V. M., Golin B. N., Magomedov O. A. Wafers against strongylatosis and anoplocephalyatosis. *Veterinariya = Veterinary Medicine*. 1990; 7: 44-45. (In Russ.)
6. Ogorodnikov A.V. Nematode infections of cattle in the Middle Cis-Ural region and substantiation of optimal deworming schemes: avtoref. dis. ... Cand. Sc. Vet. M., 2001; 26. (In Russ.)
7. Rezyapkin I. N. Efficacy of Alben forte suspension against helminthosis in cattle. «*Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami: materialy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": scientific conference materials*. M., 2012; 13: 335-338. (In Russ.)
8. Sadov K. M. Associative parasitic diseases of cattle and the development of a rational system to control them in the Middle Volga region: avtoref. dis. ... Dr. Sc. Vet. Ivanovo, 2008; 44. (In Russ.)
9. Samobochiy A.V. Epizootological characteristics of helminth infections in cattle and control measures in the south of Western Siberia: avtoref. dis. ... Cand. Sc. Vet. 2001; 23. (In Russ.)
10. Anwar A. H., Hayat C. S., Amir M. I. Prevalence of gastrointestinal helminthiasis and comparative efficacy of anthelmintics in parasitized buffalo calves. *Pakistan Vet. J.* 1996; 16 (4): 160-163.
11. Callinan A. P., Cummins L. I. Efficacy of anthelmintics against cattle nematodes. *Austral. Vet. J.* 1979; 55 (8): 370-373.
12. Campbell W. C. Chemotherapy of parasitic diseases / W. C. Campbell, R. S. Rew. New York and London: Springer, 1986; 655.
13. Duwell D. Anthelmintic efficacy of mebendazole and fenbendazole inn ruminants. *Pest. Sci.* 1980; 9 (3): 550-555.
14. Kutzer E., Prosl H., Frey H. Anthelmintic wirkung fenbendazole gegen parasiten von rind. *Dtsch. tirarztl. Wochenschr.* 1974; 81 (1): 112-119.
15. Mariner S., Armour J. Nematode infections of domestic animals: gastrointestinal infections / In Chemotherapy of Parasitic Diseases., Edit. W. C. Campbell, P. S. Rew. 1986; 297-300.
16. Riviere J. E., Papich V. G. Veterinary pharmacology and therapeutics. Hoboken: 9 th ed.: Willey Blackwell. 2009; 317.
17. Wood I., Amaral N., Bairden K. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *J. Vet. Parasitol.* 1995; 58 (3): 181-213.

The article was submitted 15.05.2022; accepted for publication 18.07.2022

About the authors:

Arkhipov Ivan A., Dr. Vet. Sc., Professor, VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia), ORCID ID: 0000-0001-5165-0706, arkipovhelm@mail.ru

Varlamova Anastasiya I., PhD in Vet. Sc., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia), ORCID ID: 0000-0001-8364-5055, arsphoeb@mail.ru

Radionov Aleksandr V., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Cand. Sc. Vet., alexander.radionov@nutreco.com

Contribution of co-authors:

Arkhipov Ivan A. – academic supervision, research, obtained data analysis and interpretation, article preparation.

Varlamova Anastasiya I. – obtained data analysis and interpretation, critical analysis of the material, article preparation.

Radionov Aleksandr V. – research, obtained data analysis and interpretation.

All authors have read and approved the final manuscript.