

SIE HABEN ES IN DER HAND:
BIOFILM DURCHBRECHEN UND ZERSTÖREN,
UM WUNDHEILUNG VORANZUTREIBEN



Der Kampf gegen chronische Wunden ist notwendig

Schätzungsweise sind 1% der Gesamtbevölkerung in den Industrieländern betroffen¹ und es ist zu erwarten, dass chronische Wunden aufgrund alternder Bevölkerungen sogar noch zunehmen werden.^{2,3}



6.000 € - 10.000 €

sind die geschätzten Kosten pro Jahr, um eine Wunde zu versorgen. Europaweit entfallen etwa 2 - 4 % der Ausgaben für die Gesundheitsversorgung auf diesen Bereich.⁴⁻⁷



Übermäßiger Antibiotika-Einsatz

Für Patienten mit chronischen, stagnierenden Wunden werden besorgniserregend hohe¹⁰ Antibiotika-Verordnungsrate erreicht (60 - 75%).^{8,9}



Kosten infizierter Wunden

Die Kosten pro Patient mit einem diabetischen Fußgeschwür sind **4x höher**, wenn zusätzlich eine Infektion vorliegt – verursacht zum größten Teil durch Antibiotika, Amputationen und Klinikaufenthalte.¹¹

MINDESTENS 78% ALLER CHRONISCHEN WUNDEN WEISEN BIOFILM AUF¹²

IN 75% DER STAGNIERENDEN WUNDEN WURDE BIOFILM NACHGEWIESEN¹³

Nehmen Sie Biofilm in Angriff

Im Kampf gegen chronische Wunden gibt es einen unsichtbaren Feind. Biofilm ist eine Hauptursache der chronischen Infektion¹⁴ und blockiert die effektive Wirksamkeit von Antibiotika und Antiseptika.¹⁵



Biofilm ist überall

Biofilm macht im Gesundheitswesen mehr als 80% aller mikrobiellen Infektionen aus.¹⁶ In der Natur existieren 99% der Bakterien in Biofilm-Gemeinschaften.¹⁷



Schwierig zu beseitigen

Es ist schwierig, Biofilm vollständig zu entfernen – selbst mittels Débridement. Zudem bildet er sich schnell wieder neu¹⁸ und stellt eine Vorstufe von Infektionen dar.¹⁵ Biofilm ist tolerant gegenüber Antiseptika und Antibiotika und ist in der Lage, die körpereigene Immunabwehr zu umgehen.^{15,19}

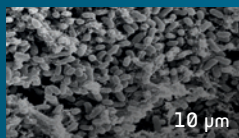
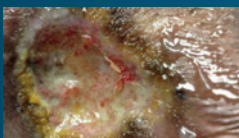


Verzögert Wundheilung

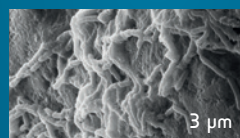
Biofilm erzeugt eine anhaltende Entzündungsreaktion²² und beeinträchtigt dadurch auch die Granulation und Epithelisierung der Wunde.²²

Makroskopische Ansicht Rasterelektronenmikroskop-Aufnahmen

1.



2.

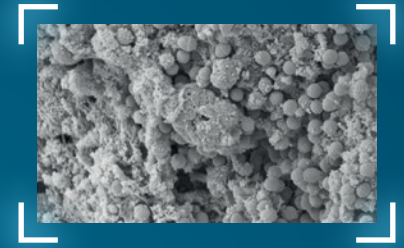


Eine Anwendungsbeobachtung von stagnierenden Wunden¹³ bestätigt die Ergebnisse einer Meta-Analyse¹² über die Verbreitung von Biofilm:

- 16 stagnierende Wunden wurden ausgewählt, bei denen die Hauptursache für die Stagnation Biofilm war.
- Eine Biopsie und eine anschließende mikroskopische Analyse bestätigten die Präsenz von Biofilm in 75% der Wunden.

Lernen Sie Ihren Gegner kennen

Biofilm setzt sich aus mikrobiellen Zellen zusammen, die sich eingebettet in einer durch sie selbst gebildeten Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) an lebende oder nicht lebende Oberflächen anhaften. Biofilm bietet den Zellen Toleranz gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen und kann zu chronischen Entzündungen und Infektionen führen.^{22, 23}



Biofilm-Aufnahme mit einem Rasterelektronenmikroskop¹³

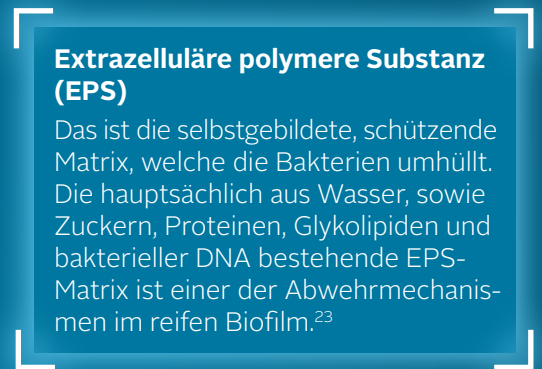
Wie verhält sich Biofilm in der Wunde?



VERTEIDIGUNG

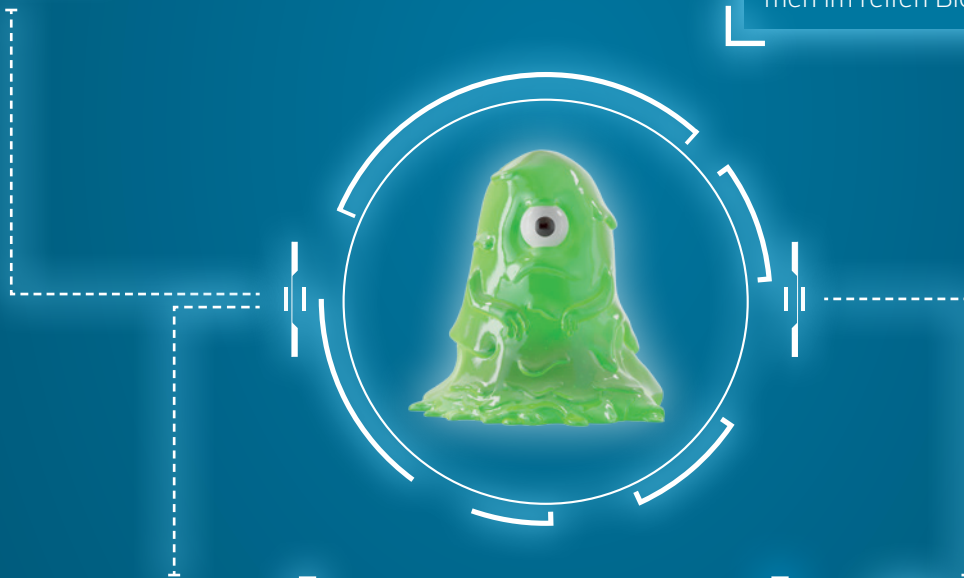
Die EPS-Matrix schützt Mikroorganismen vor Antibiotika, Antiseptika und der Immunreaktion des Wirts.²³

Die EPS-Matrix selbst und die Schwierigkeit, diese zu durchbrechen, tragen zu einer chronischen Entzündung in der Wunde bei.²²



Extrazelluläre polymere Substanz (EPS)

Das ist die selbstgebildete, schützende Matrix, welche die Bakterien umhüllt. Die hauptsächlich aus Wasser, sowie Zuckern, Proteinen, Glykolipiden und bakterieller DNA bestehende EPS-Matrix ist einer der Abwehrmechanismen im reifen Biofilm.²³



ERHOLUNG

Da Biofilm am Wundbett anhaftet, ist er schwer zu entfernen. Er kann sich bereits nach 24 Stunden wieder neu bilden, selbst nach einem Débridement.¹⁸

Um die Neubildung von Biofilm zu verhindern, ist ein nachhaltiger antimikrobieller Schutz erforderlich.¹⁸



ANGRIFF

Biofilm kann sich durch die ständige Freisetzung von Mikroorganismen aus der reifen Biofilm-Struktur ausbreiten und neue Kolonien bilden.²⁴

Dies kann das Risiko von Kreuzinfektionen erhöhen, sowohl in der Wunde als auch in der Wundumgebung.²⁵

MEHR ALS SILBER™ mit unserer einzigartigen Technologie Biofilm durchbrechen und zerstören

Die MEHR ALS SILBER™ Technologie wurde speziell entwickelt, um den Kampf gegen Biofilm zu gewinnen. Sie enthält drei Komponenten: ionisches Silber, ein Tensid und einen Metallchelatabbildner. Diese wirken synergistisch zusammen und bieten eine überlegene Anti-Biofilm Wirksamkeit.*²⁶

In ihren 2014 veröffentlichten Leitlinien zur Diagnose und Management von Biofilm-Infektionen²⁷ erkennt die Europäische Gesellschaft für klinische Mikrobiologie und Infektionskrankheiten Biofilm als wichtigste Ursache für chronische Wundinfektionen an.

Zusätzlich brachte die Gesellschaft dringenden Forschungsbedarf zur Verbesserung der Prävention und Behandlung von Biofilm-Infektionen zum Ausdruck, einschließlich der Forschung zu Chelatbildnern und ihrer Fähigkeit, Biofilm für eine Behandlung zugänglicher zu machen.²⁷

Das Ergebnis jahrelanger Forschung

Im Rahmen der Entwicklung der MEHR ALS SILBER™ Technologie wurde eine Vielzahl an Wirkstoffen und Tensiden, die Biofilm durchbrechen können, in Kombination mit antimikrobiellen Mitteln erforscht.²⁶

250.000

POTENTIELL WIRKSAME
KOMBINATIONEN IDENTIFIZIERT

60.000

GETESTET

Vereint im Kampf gegen Biofilm

Schlechtes Exsudatmanagement begünstigt die Entwicklung von Biofilm.²⁸

Die Hydrofiber® Technologie ergänzt sich perfekt mit der MEHR ALS SILBER™ Technologie. Gemeinsam sorgen sie dafür, dass Wundexsudat, zerstörte EPS und Bakterien in den Wundverband aufgenommen und entfernt werden.

So wird eine optimale Feuchtigkeitsbalance in der Wunde aufrechterhalten und die Wundheilung unterstützt.²⁹



* Verglichen mit AQUACEL® Ag+ Extra™ Wundverbänden und anderen Wundverbänden, die nur mit Silber ausgestattet sind: ACTICOAT™ 7 und SILVERCEL™ nicht haftende Wundverbände.

▶ 1. BENZETHONIUMCHLORID

TENSID, DAS DIE OBERFLÄCHENSpannung VERMINDERT

- Tenside helfen beim Auflösen und Entfernen von Verschmutzungen auf Oberflächen durch das Herabsetzen der Oberflächenspannung und werden auch in Reinigungsprodukten wie Feuchttüchern eingesetzt.
- Im Biofilm reduziert Benzethoniumchlorid die Oberflächenspannung, um die Leistungsfähigkeit von EDTA zu verbessern. Benzethoniumchlorid und EDTA arbeiten synergistisch zusammen, um die Biofilm-Struktur zu durchbrechen und die Aufnahme und Entfernung der EPS-Matrix sowie der Mikroorganismen durch den Verband zu ermöglichen.³⁰⁻³⁴

▶ 2. EDTA

METALLCHELATBILDNER, DER DEN BIOFILM DURCHBRICHT

- Chelatbildner sind Verbindungen, die bestimmte Metallionen stark anziehen und binden, wodurch die Wirkung von Tensiden wie Benzethoniumchlorid verstärkt wird.
- EDTA (Ethyldiamintetraacetat) trägt dazu bei, Biofilm zu durchbrechen, indem es die Metallionen entfernt, die die EPS-Matrix zusammenhalten und setzt die Mikroorganismen damit der antimikrobiellen Wirkung von ionischem Silber aus.³⁰⁻³³

▶ DURCHBRICHT ●●●

●●● DURCHBRICHT ◀



ZERSTÖRT ●●●

▶ 3. IONISCHES SILBER

MIT ANTIMIKROBIELLER WIRKSAMKEIT GEGEN BAKTERIEN

- Silber ist ein sicheres antimikrobielles Mittel mit einem Breitband-Wirksamkeitsspektrum, welches nur in seiner ionischen Form wirksam ist. Silberionen, die von bakteriellen Zellwänden angezogen werden, sammeln sich an und dringen in die Zelle ein. Dort beschädigen Sie die Zell-DNA, denaturieren Proteine und Enzyme und beeinträchtigen die Proteinsynthese. Die Zellwand wird porös und der Zellinhalt läuft aus, was zum Zelltod führt.^{35,36}
- Silberionen töten sowohl freischwimmende als auch aus dem Biofilm freigesetzte Bakterien ab und verhindern den Wiederaufbau von Biofilm.^{26,29}

Biofilm durchbrechen, zerstören und seinen Wiederaufbau verhindern

Die MEHR ALS SILBER™ Technologie in AQUACEL® Ag+ Wundverbänden ermöglicht eine überlegene und anhaltende Anti-Biofilm Wirksamkeit gegen antibiotikaresistente Biofilme und verhindert ihren Wiederaufbau.

Untersuchung

CA-MRSA in einem *in vitro* Biofilm Wundmodell.³⁷

Zielsetzung

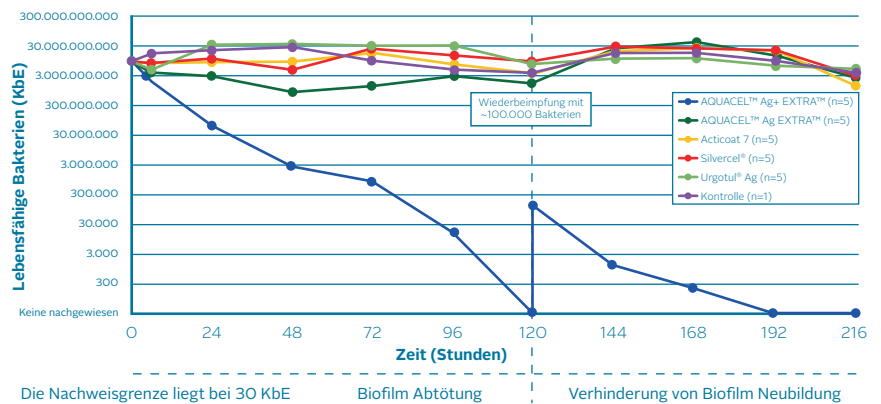
Nachweis der antimikrobiellen Wirksamkeit von AQUACEL® Ag+ Extra™ und anderen silberhaltigen Wundverbänden gegen antibiotikaresistente Mikroorganismen in Bezug auf:

- ihre Fähigkeit, Biofilm zu durchbrechen und die Mikroorganismen abzutöten.
- ihre Fähigkeit, den Wiederaufbau von Biofilm (nach einer Wiederbeimpfung) zu verhindern.

Ergebnisse

AQUACEL® Ag+ Extra™ zeigte:

- schnellere Abtötung von CA-MRSA
- Reduktion von Biofilm innerhalb von 6 Stunden nach Anlegen des Wundverbandes
- Anhaltende Wirksamkeit nach der Wiederbeimpfung am 5. Tag



Antimikrobielle Wirksamkeit von AQUACEL® Ag+ Extra™, AQUACEL® Ag Extra™, Acticoat 7, Silvercel® und Urgotul® Silver gegen CA-MRSA (Community Acquired MRSA = Außerhalb von Krankenhäusern erworbene Methicilin-resistente *Staphylococcus aureus*); Darstellung der Abtötung und Verhinderung von Biofilm-Wiederaufbau über 9 Tage.

Die MEHR ALS SILBER™ Technologie in AQUACEL® Ag+ Wundverbänden bietet gegenüber anderen silberhaltigen Wundverbänden eine höhere Anti-Biofilm Wirksamkeit.

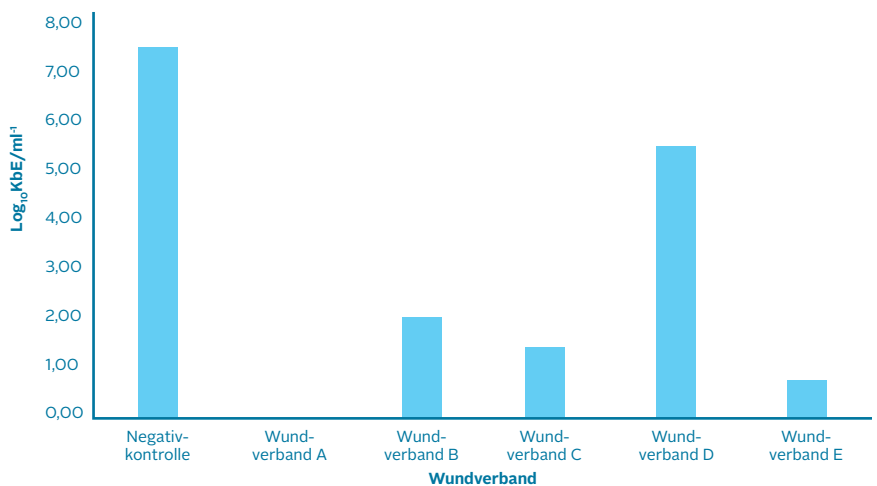
Untersuchung

Echte Wundverhältnisse zu imitieren, ist eine Herausforderung. Basierend auf einem von UKAS* zertifiziertem CDC** Reaktormodell wurde ein *in vitro* Biofilm Modell mit gemischten Bakterienarten entwickelt. Der CDC Reaktor wurde für 72 Stunden unter Verwendung einer Suspension inkubiert, die *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Candida albicans* enthielt. Die Wundverbände wurden für 24 Stunden appliziert.³⁸

* United Kingdom Accreditation Service
** Center for Disease Control and Prevention

Zielsetzung

Der Vergleich der Anti-Biofilm Wirksamkeit von AQUACEL® Ag+ Extra™ mit einer Auswahl von gelbildenden Wundverbänden, die nur Silber enthalten.



Gesamtkeimzahl der lebensfähigen Bakterien nach 24-stündiger Behandlung eines über 72 Stunden gereiften Biofilms mit gemischten Bakterienarten.

Wundverbände: A = AQUACEL® Ag+ Extra™, B = UrgoClean™ Ag, C = Exufiber™ Ag+, D = Maxorb™ Extra Ag+, E = Kerracel™ Ag

Ergebnisse

Nur AQUACEL® Ag+ Extra™ reduzierte nach 24-stündiger Testdauer die lebensfähigen Mikroorganismen auf ein nicht mehr nachweisbares Niveau.

Biofilm bekämpfen, um Wundheilung voranzutreiben

AQUACEL® Ag+ Wundverbände fördern die Heilung bei stagnierenden chronischen Wunden.

Untersuchung

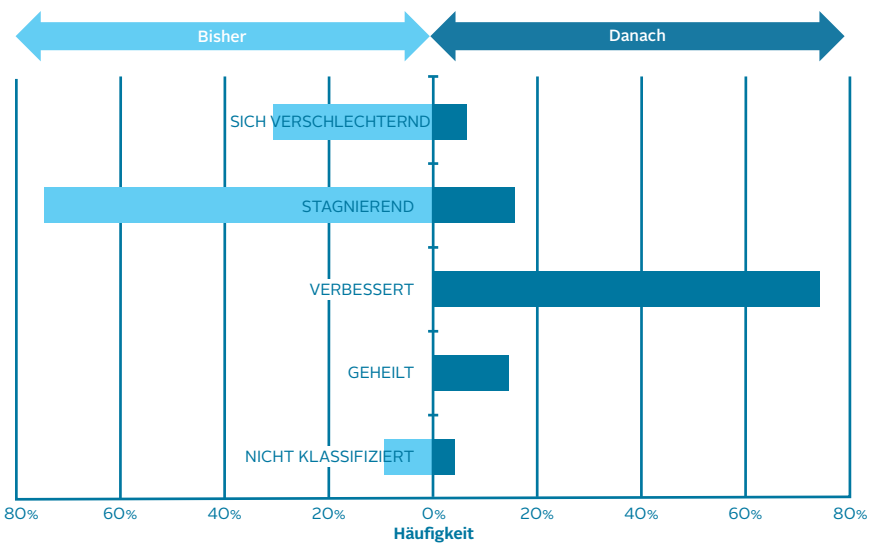
111 Patienten mit stagnierenden und schwierigen Wunden aus 60 Kliniken in Großbritannien und Irland.³⁹

Zielsetzung

Nachweis der Fähigkeit von AQUACEL® Ag+ Extra™, Wundheilung bei chronischen Wunden zu fördern, die zu Beginn der Behandlung als stagnierend oder sich verschlechternd eingestuft wurden.

Ergebnisse

- 78% der Wunden zeigten Heilungsfortschritte, 13% sind während des durchschnittlichen Bewertungszeitraums von 3,9 Wochen vollständig abgeheilt.
- 83% der Wunden zeigten Heilungsfortschritte in den wesentlichen Wundheilungsparametern (Exsudat, Verdacht auf Biofilm und Wundheilung).



Wundstatus zu Beginn der Behandlung mit AQUACEL® Ag+ Extra™ (Hellblau) und nach der Behandlung mit AQUACEL® Ag+ Extra™ (Dunkelblau).

Klinische Fallstudien: Wundheilung bei chronischen Wunden fördern

Beispiel 1 – Diabetische Fußulzeration:

Der Heilungsverlauf dieser Wunde stagnierte mehr als 6 Monate. Klinische Anzeichen: Geruch, Exsudat, Beläge, Verdacht auf Biofilm.

Ergebnis:

Nach 10 Tagen Behandlung mit AQUACEL® Ag+ Tamponade haben sich Wundumgebung und Wundgrund positiv entwickelt. Abheilung der Ulzeration innerhalb von 5 Wochen.

Beispiel 2 – Fußulkus:

Wunde besteht seit über 3 Monaten. Bisherige Behandlung mit Antibiotika und silberhaltigen Wundverbänden zeigte keinen Erfolg.

Ergebnis:

Nach Versorgung mit AQUACEL® Ag+ Wundverbänden: Signifikante Reduktion der Wundbeläge, deutliche Zunahme des Granulationsgewebes. Fußulkus in weniger als 7 Wochen abgeheilt.



Tag 0



10 Tage



37 Tage



Tag 0



15 Tage



45 Tage

Bilder mit freundlicher Genehmigung von Vitor Santos, Centro de Tratamento de Feridas São Peregrino – Med Caldas verwendet

Zögern Sie nicht, greifen Sie Biofilm an! Mit den AQUACEL® Ag+ Wundverbänden

AQUACEL® Ag+ Wundverbände

Größe	Packungs- inhalt	PZN (D)	REF (A)	Pharma- code (CH)
AQUACEL® Ag+ Extra™ Wundauflage				
5 x 5 cm	10 Stück	102 038 56	413 566	585 01 57
10 x 10 cm	10 Stück	102 038 10	413 567	585 01 63
15 x 15 cm	5 Stück	102 038 27	413 568	585 01 86
20 x 30 cm	5 Stück	102 038 33	413 569	585 01 92
4 x 10 cm	10 Stück	102 037 44	413 581	585 02 23
4 x 20 cm	10 Stück	102 037 50	413 598	585 02 46
4 x 30 cm	10 Stück	102 037 67	413 599	585 02 52
AQUACEL® Ag+ Tamponade				
1 x 45 cm	5 Stück	102 037 73	413 570	585 02 00
2 x 45 cm	5 Stück	102 038 04	413 571	585 02 17

Warum warten, bis sich eine Wunde verschlechtert?

Wenn Sie mit verzögerter Wundheilung konfrontiert sind, ist es an der Zeit, den unsichtbaren Feind anzugreifen.



Mit AQUACEL® Ag+ Wundverbänden haben Sie es in der Hand, Biofilm zu durchbrechen und zu zerstören, um die Wundheilung voranzutreiben.

Erfahren Sie mehr über die Wundversorgungsprodukte von ConvaTec oder vereinbaren Sie einen Termin mit Ihrem persönlichen Ansprechpartner bei ConvaTec

Gebührenfreie Kundenberatung :

Deutschland:
0800-78 66 200
www.convatec.de

Österreich:
0800-21 63 39
www.convatec.at

Schweiz:
0800-55 11 10
www.convatec.ch

Distributed by
puras
031 996 85 85
puras.ch

 **ConvaTec**

1. Sen CK, Gordillo GM, Roy S, et al. Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy. *Wound Repair Regen.* 2009;17(6):763-71. 2. Ortman JM, Velkoff VA, Hogan H. An Aging Nation: The Older Population in the United States. U.S. Department of Commerce; 2014 [Available from: <https://www.census.gov/prod/2014pubs/p25-1140.pdf> (assessed 16 January 2018)]. 3. Rosenthal RJ, Morton J, Brethauer S, Mattar S, De Maria E, Benz JK, et al. Obesity in America. *Surg Obes Relat Dis.* 2017;13(10):1643-50. 4. Purwins S, Herberger K, Debus S, et al. Cost-of-illness of chronic leg ulcers in Germany. *Int Wound J.* 2010;7(2):97-102. 5. Hjort A, Gottrup F. Cost of wound treatment to increase significantly in Denmark over the next decade. *J Wound Care.* 2010;19(5):173-4, 176, 178, 180, 182, 184. 6. Posnett J, Gottrup F, Lundgren H, Saal G. The resource impact of wounds on health-care providers in Europe. *J Wound Care.* 2009;18(4):154-161. 7. Guest JF, Ayoub N, McIlwraith T, et al. Health economic burden that wounds impose on the National Health Service in the UK. *BMJ Open.* 2015;5:e009283. doi:10.1136/bmjopen-2015-009283. 8. Tammelin A, Lindholm C, Hambraeus A. Chronic ulcers and antibiotic treatment. *J Wound Care.* 1998; 7:435-437. 9. Gürgen M. Excess use of antibiotics in patients with non-healing ulcers. *EWMA Journal.* 2014; 14:17-22. 10. Bowler PG. Antibiotic resistance and biofilm tolerance: A combined threat in the treatment of chronic infections. *J Wound Care.* 2018; 27:273-277. 11. Prompers L, Huijberts M, Schaper N, Apelqvist J et al. Resource utilisation and costs associated with the treatment of diabetic foot ulcers. Prospective data from the Eurodiale Study. *Diabetologica.* 2008; 51:1826-1834. 12. Malone M et al. 2017. The prevalence of biofilm in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. *JWC.* 20-25. 13. Hurlow, Blanz, Gaddy. Clinical investigation of biofilm in non-healing wounds by high resolution microscopy techniques. *J Wound Care WUWHS Suppl.* 2016; 25: S11-S22. 14. Wolcott R, Sanford N, Gabriliska R et al. Microbiota is a primary cause of pathogenesis of chronic wounds. *J Wound Care WUWHS Suppl.* 2016;25(10): S33-S43. 15. Percival SL, Bowler PG, 2004. Biofilms and their potential role in wound healing. *WOUNDS.* 16: 234-240. 16. National Institutes of Health, 2002. Research on microbial biofilms. <https://grants.nih.gov/grants/guide/pa-files/PA-03-047.html>. Accessed October 2017. 17. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Micro Rev.* 2002; 15:167-193. 18. Wolcott RD et al. Biofilm maturity studies indicate sharp debridement opens a time dependent therapeutic window. *J Wound Care.* 2010; 19:320-328. 19. Bowler. Antibiotic resistance and biofilm tolerance: a combined threat in the treatment of chronic infections. *JWC Vol 27;No 5.* 2018. 20. Hurlow, J, Couch, K, Laforet, K, Bolton, L, Metcalf, D, et al. (2015). Clinical Biofilms: A Challenging Frontier in Wound Care. *Advances in Wound Care.* 4(5), 295-301. 21. Metcalf, Bowler. Biofilm delays wound healing: a review of the evidence. *Burns Trauma.* 2013; 1: 5-12. 22. Gurjala AN et al. Development of a novel, highly quantitative in vivo model for the study of biofilm-impaired cutaneous wound healing. *Wound Rep Reg.* (2011) 19 400-410. 23. Hall-Stoodley L et al. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012; 65:127-145. 24. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. 1999; 284 Science. 25. Saye D.E. Recurring and antimicrobial-resistant infections: Considering the potential role of biofilms in clinical practice *Ostomy Wound Management.* 2007 53:4 (46-62). 26. Bowler PG, Parsons D. Combating wound biofilm and recalcitrance with a novel anti-biofilm Hydrofiber® wound dressing. *Wound Medicine.* 14 (2016) 6-11. 27. N. Hoiby et al. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21: S1-S25. 28. Hurlow, Bowler. Potential implications of biofilm in chronic wounds: a case series. *J Wound Care.* 2012; 21: 109-119. 29. Parsons D, Meredith K, Rowlands VJ, Short D, Metcalf DG, Bowler PG. Enhanced Performance and Mode of Action of a Novel Antibiofilm Hydrofiber® Wound Dressing. *Biomed Res Int.* 2016;2016:7616471. 30. Said J, Walker M, Parsons D, Stapleton P, Beezer AE, Gaisford S. An in vitro test of the efficacy of an anti-biofilm wound dressing. *Int J Pharmaceutics.* 2014; 474: 177-181. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.08.034. 31. Composition comprising antimicrobial metal ions and a quaternary cationic surfactant WO12136968 Parsons World patent application 11th October 2012. 32. Banin E, Brady KM, & Greenberg E.P. (2006). Chelator Induced Dispersal and Killing of Pseudomonas aeruginosa Cells in Biofilm. *Appl. Environ. Microbiol.* 72. 2064-2069. 33. Chen X, Stewart PS, 2000. Biofilm removal caused by chemical treatments. *Wat. Res.* 34: 4229-4233. 34. Seth AK, Zhong A, Nguyen KT, Hong SJ, Leung KP, Gallano RD, Mustoe TA. Impact of a novel, antimicrobial dressing on in vivo, Pseudomonas aeruginosa wound biofilm: quantitative comparative analysis using a rabbit ear model. *Wound Repair Regen.* 2014; 22: 712-719. DOI: 10.1111/wrr.12232. 35. Hobot JA, Walker M, Newman GN, Bowler PG, 2008. Effect of Hydrofiber® wound dressings on bacterial ultrastructure. *J Electr Micro.* 57: 67-75. 36. T. J. Beveridge, W. S. Fyfe. Metal fixation by bacterial cell walls. *Canadian Journal of Earth Sciences.* 1985, 22(12): 1893-1898, <https://doi.org/10.1139/e85-204>. 37. WHRI5860 MA322-In Vitro Antimicrobial Activity of AQUACEL Ag + Extra and AQUACEL Ag Extra against Acticoat 7, Silvercel NA and Urgotul Ag -V1. ConvaTec Data on File. 27 November 2018. 38. Assessment of the Anti-biofilm activity of silver-containing gelling fibre wound dressings, using a multi-species CDC reactor model. Hannah Thomas, Perfectus Biomed. Presented at Wounds UK November 2018. <https://epostersonline.com/Wounds2018/node/171> Accessed November 2018. 39. Metcalf DG, Parsons D, Bowler PG. Clinical safety and effectiveness evaluation of a new antimicrobial wound dressing designed to manage exudate, infection and biofilm. *Int Wound J.* 2017; 14: 203-213.