

# Análisis microbiológico de la etnofarmacología empleada por el pueblo Misak

## A microbiological analysis of the ethnopharmacological products used by the Misak people

Edison A. Benavides-Hernández, Anabeli Coronel-Gaviria y  
Dalia V. Ruiz-García

Universidad del Cauca. Popayán, Colombia. edison.benavides747@gmail.com; anitacg88@gmail.com, vane1123@hotmail.com

Recibido 28 Noviembre 2013/Enviado para Modificación 23 Abril 2014/Aceptado 3 Mayo 2014

### RESUMEN

**Objetivo** Evaluar la presencia, tipo y cantidad de microorganismos en algunos de los principales productos etnofarmacológicos de administración oral, comercializados en el laboratorio Sierra Morena ubicado en el resguardo indígena de Guambia, en el Departamento del Cauca.

**Materiales y Métodos** Se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo, de corte transversal. Se realizó un análisis microbiológico a través de la filtración por membrana de seis muestras escogidas de forma aleatoria que incluyeron el agua y cinco productos etnofarmacológicos listos para la distribución comercial.

**Resultados** Las muestras tomadas fueron no aptas microbiológicamente para el consumo humano debido a la presencia de *Escherichia coli* y coliformes. El recuento de UFC (Unidades Formadoras de Colonias)/100ml, (parámetro de referencia 0 UFC/100ml) llegó a ser de hasta 63.000 UFC/100ml en el caso del agua y de 110 UFC/100ml para los etnofármacos.

**Conclusiones** Los resultados cuantitativos revelaron la presencia de organismos patógenos, lo que evidencia un fallo en la infraestructura del abastecimiento rural y purificación del agua. Es necesario un monitoreo continuo de la calidad del agua y una intervención urgente de la elaboración de los etnofármacos debido a que también se encuentran contaminados.

**Palabras Clave:** Etnofarmacología, abastecimiento rural de agua, contaminación de ríos, contaminación de medicamentos (*fuentes: DeCS, BIREME*).

### ABSTRACT

**Objectives** Evaluating microorganism presence, type and quantity in some of the most important ethnopharmacological products designed for oral administration

currently being distributed by the Sierra Morena laboratory located in the Guambia Indian reservation (Cauca department, Colombia).

**Materials and Methods** This was a cross-sectional descriptive study; it involved microbiological analysis using membrane filtration of six randomly-chosen samples which included the water being used by the laboratory and five of its ethnopharmacological products ready for commercial distribution and sale.

**Results** The samples studied here were not microbiologically suitable for human consumption because they contained *Escherichia coli* and fecal coliforms. Colony forming unit (CFU) count/100 mL (reference 0 CFU/100 mL) was found to be up to 63,000 CFU/100 mL in water samples and 110 CFU/100 mL in ethnopharmacological samples.

**Conclusions** The quantitative results revealed the presence of pathogens, indicating failure in rural water supply and environmental sanitation infrastructure. On-going monitoring of water quality and an urgent intervention of the laboratory's ethnopharmacological production is necessary because of the contamination found there.

**Key Words:** Ethnopharmacology, rural water supply, river water pollution, drug contamination (*source: MeSH, NLM*).

**A**unque la mayoría de las exposiciones a plantas no son intencionales, muchos adultos y sus hijos ingieren productos herbales para el auto tratamiento de algunas dolencias y el mantenimiento de la salud. Los componentes de muchos productos a base de hierbas están por lo general pobremente definidos y, aunque se derive de una planta en particular, estos pueden contener materias no herbales, productos animales, productos minerales y, en casos particulares, contaminantes específicos (1).

La organización mundial de la salud (OMS) ha estimado que los remedios herbales y algunos otros derivados de plantas son el tipo de terapia más frecuentemente empleada en todo el mundo. Se estima que 4 billones de personas, es decir el 80 % de la población mundial, usa preparaciones herbales para el mantenimiento primario de la salud (2). Una de las principales causas del aumento del uso de preparaciones herbales en los países primer mundistas es el incremento en los costos de los servicios de salud (3), llevando al desarrollo de una industria de billones de dólares (1). En nuestro medio, no se trata simplemente de la creciente dificultad para acceder a un servicio de salud adecuado, sino también de una cuestión fuertemente aferrada a las creencias indígenas, quienes continúan dando manejo a las distintas enfermedades desde un enfoque propio (4,5).

Colombia es un país muy diverso étnicamente y gran parte de los pueblos indígenas se asientan en el sur del país. El pueblo Misak, también

denominado Guambiano, compuesto por al menos 13 000 personas, es uno de los 81 resguardos indígenas que ocupan el territorio colombiano (6). Los Misak “hijos del agua” en idioma Wampi-misamerawam, no solo conservan su propio dialecto, sino también, cuentan con sus propias prácticas medicinales, producto de la tradición oral y del legado de los Taitas (6).

El ejercicio de la medicina en el contexto Misak (7) guarda una profunda relación con la madre tierra (incluyendo las plantas medicinales), con lo espiritual y con el agua. De esta manera, diversas preparaciones herbales son, con frecuencia, empleados en el tratamiento de las principales dolencias presentadas por estos pueblos (8). Situación que guarda múltiples aspectos en común con otras culturas indígenas del país (9) y del continente (10).

El proceso de elaboración de las distintas medicinas herbales llevado a cabo por esta comunidad indígena, y otros grupos culturales en el país, no siempre cumple con los estándares de calidad necesarios, por lo que resulta probable encontrar contaminantes biológicos, y de otro tipo, en los productos distribuidos como se ha demostrado en otras medicinas herbales (11).

Este trabajo buscó evaluar la presencia, tipo y cantidad de microorganismos contaminantes en algunas de las principales medicinas tradicionales de administración oral, producidas en el laboratorio etnofarmacológico Sierra Morena del resguardo indígena de Guambia Cauca.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio observacional, descriptivo, de corte transversal llevado a cabo en el Municipio de Silvia, Cauca, territorio del cabildo indígena de Guambía en el mes de enero de 2013.

Se tomaron un total de seis muestras. La primera de ellas de la quebrada Cacique, agua empleada como materia prima para la elaboración de los distintos productos etnofarmacológicos. Se recogieron 100 ml de agua de los cuales 50 ml fueron tomados del tanque de almacenamiento, que es surtido a través de tubos de PVC del cauce de la quebrada Cacique ubicada en el páramo. Los 50 ml restantes se tomaron de los dos grifos utilizados en el interior del laboratorio, para esto se realizó un flameo con mechero de la llave respectiva y se purgó cada frasco antes de tomar la muestra.

Las cinco muestras restantes se hicieron de los productos, terminados y listos para su distribución, de la siguiente manera:

Se realizó un inventario de los productos encontrados en la farmacia de Sierra Morena. Se tuvo en cuenta solo aquellos de prescripción oral, obteniendo un total de 13 fármacos de los cuales se seleccionaron cinco aleatoriamente. Se procedió a enumerar el total de existencias de cada uno de los etnofármacos denominados 1. “Gastritis”; 2. “Fiebre”; 3. “Epilepsia”; 4. “Hígado”, y; 5. “Gripa”, y se eligió un frasco de cada etnofarmaco aleatoriamente empleando la herramienta “ALEATORIO” del paquete estadístico de Microsoft Office Excel. Todas las muestras se embalaron en frío y fueron transportadas al laboratorio de Biología de la Universidad del Cauca para la realización de los análisis dentro de las primeras 24 horas.

#### Análisis de las muestras

Para este estudio se empleó el método de filtración por membrana. Se siguieron los lineamientos del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial de Colombia, mediante la resolución 2115 de 2007, Capítulo III, artículo 10, que establece las técnicas de análisis microbiológico (12).

**Muestra Agua cruda:** Se prepararon 3 diluciones de la muestra de agua cruda con el fin de generar un buen aislamiento de las colonias a identificar, para ello se tomaron 20 mL de la muestra diluidas en 180 mL de agua destilada, obteniendo la primera dilución [10-1]. De la misma manera, variando las cantidades se prepararon 2 diluciones más [10-2 y 10-3]. Por cada dilución se realizaron 2 filtraciones, cada una de 100 mL, como lo recomiendan los métodos estándar. Se realizó el montaje para proceder a la filtración, ubicando el filtro de membrana, se removió con una pinza estéril y se procedió a filtrar la muestra. Posteriormente el filtro de membrana se colocó sobre el medio de cultivo Agar Endo contenido en una Caja de Petri. Se incubó una muestra a 37°C por 24 horas, para identificación de Coliformes totales y otra a 44°C durante 24 horas para la determinación de organismos termotolerantes.

Después del período de incubación se hizo un conteo de las colonias formadas sobre el filtro de membrana (Unidades Formadoras de Colonias - UFC).

**Muestras de los etnofármacos:** Se realizó igual que el proceso anterior, con la excepción de que para estas no se realizaron diluciones. Para efectos

del cálculo final de la población de Coliformes presentes en la muestra se procedió a aplicar la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{UFC}}{100\text{mL}} = \frac{\text{Número de colonias}}{\text{Dilución mayor o volumen de la muestra}} \times 100$$

## RESULTADOS

Se encontraron colonias de coliformes en todas las muestras de agua cruda. Al inocular las muestras del agua empleada en el laboratorio de Sierra Morena a 37°C en busca de coliformes totales se encontraron alrededor de 300 colonias en las tres diluciones realizadas, estos hallazgos no varían mucho al momento de buscar coliformes fecales, principales marcadores de contaminación fecal del agua, siendo positivo en todas las diluciones la presencia de colonias de *Escherichia coli*.

Estos resultados llegan a ser de hasta 11 000 UFC/100ml para *Escherichia coli* en el agua del laboratorio como se indica en la Tabla 1 y hasta de 110 UFC/100ml en el caso de los etnofármacos como se indica en la Tabla 2.

**Tabla 1.** Resultados expresados en Unidad Formadora de Colonias de la muestra de agua cruda

Bacteria	Coliformes totales			Bacteria	Coliformes fecales		
	N° colonia	[ ] Sin	UFC/100 mL		N° colonia	[ ] Sin	UFC/100 mL
Lactosa-Negativa	25	1x10 <sup>-1</sup>	250	E. coli	13	1x10 <sup>-1</sup>	130
	35	1x10 <sup>-2</sup>	3 500		4	1x10 <sup>-2</sup>	400
	15 +18	1x10 <sup>-3</sup>	33 000		11	1x10 <sup>-3</sup>	11 000
	>300	1x10 <sup>-1</sup>	-		104	1x10 <sup>-1</sup>	1 040
Lactosa-Negativa	>300	1x10 <sup>-2</sup>	-	Lactosa-Positiva	25	1x10 <sup>-2</sup>	2 500
	≈273	1x10 <sup>-3</sup>	-		63	1x10 <sup>-3</sup>	63 000

UFC: Unidades formadoras de Colonias. [ ]Sin: Dilución

**Tabla 2.** Resultados Unidad Formadora de Colonias para cada etnofármaco

Hallazgo de lactosa-positiva y negativa para cada etnofármaco	N° colonia	[ ] Sin	UFC/100 mL
"Gastritis"	11	1x10 <sup>-1</sup>	110
	6	1x10 <sup>-1</sup>	60
"Gripa"	10	1x10 <sup>-1</sup>	100
	4	1x10 <sup>-1</sup>	40
"Epilepsia"	10	1x10 <sup>-1</sup>	100
	6	1x10 <sup>-1</sup>	60
"Hígado"	9	1x10 <sup>-1</sup>	90
	7	1x10 <sup>-1</sup>	70
"Fiebre"	11	1x10 <sup>-1</sup>	110
	8	1x10 <sup>-1</sup>	80

UFC: Unidades formadoras de Colonias. [ ]Sin: Dilución.

Desde el punto de vista microbiológico tanto el agua empleada por el laboratorio Sierra Morena, al igual que los etnofármacos elegidos al azar para la evaluación, resultan no aptos para el consumo humano. Esto, basado en la resolución 2115 de 2007, por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano, que establece como cero (0 UFC/100ml), el número de unidades formadoras de colonias (UFC), de coliformes y *E. coli*, permitidas en el agua destinada para el consumo humano (12).

## DISCUSIÓN

Lo que se denomina medicina tradicional Misak es un conjunto de creencias, valores y normas actuales acerca del manejo del cuerpo, de las enfermedades y de las curaciones. Las mismas, provienen de procesos culturales internos, ligados profundamente a la cosmovisión (13), conectados a los conocimientos de los antiguos y a las relaciones dentro del territorio —el agua y lugares sagrados—, de acuerdo al género, al consumo de alimentos y al diagnóstico de las enfermedades (8).

En nombre de esta medicina tradicional, se inició un proceso de pequeña industria en Sierra Morena, que no agrupa a todos los médicos tradicionales del Resguardo, sino a un grupo limitado de personas —parteras, médicos tradicionales y jóvenes— aprendices de la maceración de plantas, destilación de jarabes y fabricación de jabones con fines medicinales, para la venta. También han recibido varias capacitaciones de alemanes, brasileros, cubanos y religiosas, algunos de ellos acusados de haber extraído más el conocimiento de ellos que de haber enseñado algo nuevo (8).

El pueblo guambiano como también es conocido, guarda una profunda relación con el agua, pues allí están sus orígenes. Como elemento vital, el agua es utilizada en diferentes formas y actividades en las cuales se le dan connotaciones que remiten a los orígenes o a la esencia como pueblo (6). Es el agua precisamente la piedra angular de todas sus preparaciones etnofarmacológicas.

La biblioteca virtual en salud define la etnofarmacología como el estudio de las acciones y propiedades de los medicamentos, generalmente derivados de plantas, autóctonas para poblaciones o grupos étnicos (14).

Por su parte la organización mundial de la salud (OMS) la define como la suma completa de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas y que se utilizan para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar trastornos físicos o mentales (15).

En Colombia, la ley 1164 de 2007 sobre el talento humano en salud (16) define en el artículo 19 la medicina tradicional de la siguiente manera: "... aquellas técnicas prácticas, procedimientos, enfoques o conocimientos que utilizan la estimulación del funcionamiento de las leyes naturales para la autorregulación del ser humano con el objeto de promover, prevenir, tratar y rehabilitar la salud de la población desde un pensamiento holístico".

El laboratorio etnofarmacológico ubicado en Sierra Morena funciona también como centro de capacitación, reunión y consultas de medicina tradicional y frecuentemente como hospedaje para visitantes y centro de recuperación nutricional (8). Allí y en varios lugares de la región los productos medicinales tradicionales o alternativos son de venta libre.

Al respecto, OMS llevó a cabo una encuesta en 142 países, 99 de ellos respondieron que la mayoría de esos productos podía adquirirse sin prescripción. En 39 países, muchos remedios tradicionales se utilizan para la automedicación y son comprados o preparados por amigos o conocidos, o por el propio paciente. Esas tendencias plantean dudas acerca de la calidad de los productos utilizados, su idoneidad terapéutica en cada caso, y la falta de seguimiento médico (2).

Son escasos los datos resultantes de ensayos científicos destinados a evaluar la seguridad y eficacia de los productos y las prácticas de la medicina tradicional. Los requisitos y métodos para esas investigaciones y evaluaciones son complejos. Por ejemplo, puede resultar difícil evaluar la calidad de productos herbarios acabados. Su seguridad, eficacia y calidad depende de la calidad de las materias de origen (que pueden ser centenares) y del modo en que esos elementos son manipulados en los procesos de producción (15).

En 2010 Meza analizó el agua empleada por la comunidad guambiana. El estudio trató de sensibilizar a las autoridades indígenas sobre el inadecuado manejo de aguas residuales, tras encontrar una franca contaminación fecal del agua destinada al consumo humano (17).

A pesar de que en el actual estudio se describe un proceso de elaboración de los distintos etnofármacos empleando fuentes de agua alternas a las descritas por Meza, también se detectó contaminación fecal de las mismas, al tiempo que planteó dudas sobre el proceso de destilación y elaboración de los mismos, ya que a pesar de todo, la contaminación fecal persiste en los medicamentos terminados y listos para la comercialización.

Así las cosas, desde el punto de vista microbiológico tanto el agua empleada por el laboratorio Sierra Morena, al igual que los etnofármacos elegidos al azar para la evaluación, resultan no aptos para el consumo humano, debido a la presencia de Coliformes en los mismos (12).

Estudios similares realizados en lugares como Indonesia, donde se analizaron muestras de Jamu Gendon, un tipo de medicina tradicional local comercializado en las calles, mostró también contaminación bacteriana, por coliformes (18), poniendo en manifiesto que la falta de regulación en cuanto a la calidad de las medicinas herbales, junto a la adulteración son un riesgo potencial para los consumidores (11).

Los resultados cuantitativos revelaron la presencia de organismos patógenos, por lo que debe evaluarse la existencia de un fallo en la infraestructura del abastecimiento rural y purificación del agua empleada por el laboratorio Sierra Morena. Al tiempo que se debe monitorear la calidad del agua, la capacitación del talento humano implicado en la fabricación de las medicinas herbales, reacondicionando de forma urgente el proceso de elaboración de los etnofármacos debido a que también se encuentran contaminados.

La ley 1164 de 2007 en su artículo 20 establece que acorde con los artículos 7o y 8o de la Constitución Política se garantizará el respeto a las culturas médicas tradicionales propias de los diversos grupos étnicos, las cuales solo podrán ser practicadas por quienes sean reconocidos en cada una de sus culturas de acuerdo a sus propios mecanismos de regulación social (16).

También refiere que el personal al que hace referencia este artículo deberá certificarse mediante la inscripción en el Registro Único Nacional del Talento Humano en Salud y se les otorgará la identificación única. Para lo cual el Gobierno Nacional establecerá mecanismos de vigilancia y control al ejercicio de prácticas basadas en las culturas médicas tradicionales (16).



Esta medida no se cumple en muchas poblaciones indígenas y otros grupos culturales colombianos que, de forma irregular, elaboran distintos tipos de productos etnofarmacológicos o propios de la medicina tradicional. No obstante es difícil realizar un seguimiento y evaluación de las técnicas de producción y comercialización de las mismas (19).

Al respecto, la OMS y sus Estados Miembros colaboran para promover el uso de la medicina tradicional en la atención de salud. Con esta colaboración se pretende: apoyar la medicina tradicional e integrarla en los sistemas de salud de los países en combinación con políticas y reglamentos nacionales sobre los productos, las prácticas y los practicantes para garantizar la seguridad y calidad. Garantizar que se aplican prácticas y se utilizan productos que sean seguros, eficaces y de calidad a tenor de los datos científicos existentes. Reconocer la medicina tradicional en el marco de la atención primaria de salud a fin de incrementar el acceso a la asistencia sanitaria y preservar conocimientos y recursos; velar por la seguridad del paciente mejorando el nivel de conocimientos y competencia técnica de los practicantes de la medicina tradicional (15).

Este estudio no buscó evaluar la eficacia de los distintos preparados medicinales, pero describió la problemática generada por la contaminación de las fuentes de agua de la región. Al tiempo, dejó entrever una falta de adherencia a normas apropiadas de producción etnofarmacológica, teniendo en cuenta que la consistencia en la composición y la actividad biológica son requisitos esenciales para el uso seguro y eficaz de los agentes terapéuticos (3).

La problemática desencadenada por el uso de fuentes de agua contaminada requiere un esfuerzo multidisciplinario, la adecuación de las instalaciones y de los materiales para la elaboración de los etnofármacos podrá proyectar la industria de los mismos no solo a nivel local sino también nacional e internacional. Así las cosas, el cuidado de las fuentes de agua se encuentra acorde a la concepción Misak en la que existe una relación directa entre la salud del ecosistema, la salud de la comunidad y la salud de los individuos (4) ■

**Agradecimientos:** Los autores agradecen al doctor Carlos Erazo, docente del departamento de Salud Familiar Universidad del Cauca, a los Taitas Luis Felipe Muelas y Jeremías Tunubalá y al doctor Lorenzo Maway Muelas Gerente del Hospital Mama Dominga 2013.

## REFERENCIAS

1. Barrueto F, Hirshon JM. Herb Poisoning. 19 de diciembre de 2012 [Internet]; Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/817427-overview> Consultado enero de 2013.
2. OMS. Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales. [Internet]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>. Consultado enero de 2013.
3. Marcus DM, Grollman AP. Botanical medicines--the need for new regulations. *N Engl J Med*. 19 de diciembre de 2002;347(25):2073-6.
4. Ministerio de la Protección Social, Dirección General de Promoción Social, Organización Panamericana de la Salud. Insumos para la conceptualización y discusión de una política de protección social en salud para los grupos étnicos de Colombia. Bogotá D.C; 2004.
5. Vandebroek I, Calewaert J-B, De jonckheere Stijn, Sanca S, Semo L, Van Damme P, et al. Use of medicinal plants and pharmaceuticals by indigenous communities in the Bolivian Andes and Amazon. *Bull World Health Organ*. abril de 2004;82(4):243-50.
6. Catano LE, Acosta Fuentes BE, Navia García C, Bolaños Palacios HA, Vallejo D. Cosmovisión Guambiana para la Atención Integral a la primera Infancia y la resignificación del proyecto educativo Guambiano. Colombia: FERIVA S.A; 2008. 126 p.
7. Agredo O, Marulanda L. Vida y pensamiento guambiano. Territorio Guambiano: Cabildo Indígena del Resguardo de Guambía; 1998.
8. Acosta SGN. La esperanza y el espejo. El plan integral de vida del pueblo Guambiano. [Internet]. Disponible en: <http://www.luguiva.net/invitados/detalle1.aspx?id=98&i=3>. Consultado en enero de 2013.
9. Cardona-Arias JA. [The traditional medical system of the Emberá-Chamí Indians in the Caldas department, Colombia]. *Rev Salud Publica (Bogota)*. agosto de 2012;14(4):630-43.
10. Niforatos JD, Ryan Marquis, Mousavi A, Pogzeba A. Ethnomedicine in the Amazon: Importance and Endangerment. *Int J Trad Nat Med*. 24 de abril de 2012;1(1):20-40.
11. Ernst E. Herbal medicines: balancing benefits and risks. *Novartis Found Symp*. 2007;282:154-67; discussion 167-72, 212-8.
12. Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Resolución 2115 de 2007, Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. [Internet]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/sivicap/Normatividad/Forms/DispForm.aspx?ID=6>. Consultado en enero de 2013.
13. Catano LE, Acosta Fuentes BE, Vallejo D, Bolaños H, Garcia W, Erazo C. Resignificación de la estructura del sistema colectivo de educación para la vida misak. Colombia: FERIVA S.A; 2009.
14. Biblioteca Virtual en Salud. Descriptores en Ciencias de la Salud - DeCS Server Ethnopharmacology. [Internet]. Disponible en: <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/>. Consultado 30 de enero de 2013.
15. OMS | Medicina tradicional. [Internet]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/es/index.html>. Consultado enero de 2013.
16. Congreso de la República. Ley 1164 de 2007. Por la cual se dictan disposiciones en materia del Talento Humano en Salud. [Internet]. Disponible en: [http://www.secretariassenado.gov.co/senado/basedoc/ley/2007/ley\\_1164\\_2007.html](http://www.secretariassenado.gov.co/senado/basedoc/ley/2007/ley_1164_2007.html). Consultado enero de 2013].
17. Meza M del M, Ruiz IF, Velásquez Collazos G. Composición microbiológica de fuentes de agua natural y tratada de consumo en población guambiana: Un Estudio Piloto. *Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud Universidad del Cauca*. 2012;70.

18. Limyati D., Juniar BL. Jamu Gendong, a kind of traditional medicine in Indonesia: the microbial contamination of its raw materials and endproduct. *Journal of Ethnopharmacology*. diciembre de 1998;63(3):201-8.
19. De Smet PAGM. Herbal Remedies. *New England Journal of Medicine*. 2002;347(25): 2046-56.