

## 複雑性尿路感染症に対する Carfecillin の再発抑制効果の検討

小幡浩司・夏目 紘・村瀬達良・本多靖明・安藤 正

名古屋第一赤十字病院泌尿器科

### 緒 言

Carfecillin は英国ビーチャム社研究所で開発された経口用ペニシリン製剤で Carbenicillin (CBPC) のフェニールエステルである。Carfecillin は経口投与により腸管から吸収され加水分解をうけて CBPC となって作用し、血清中および尿中にもこの型で認められる。したがって Carfecillin は抗菌スペクトル、抗菌力ともに CBPC と近似であり、その抗菌作用は CBPC のそれによって推測されうるものである。今回われわれは、CBPC 注射によって治療され、効果のみられた慢性複雑性尿路感染症に Carfecillin を用いて、その再発抑制効果を検討した。

### 対 象

昭和49年10月から昭和50年2月までに当科に入院または外来受診した尿路感染症を有する患者を対象とした。

対象症例の構成は男子18例、女子2例の計20例であり、その年齢分布は Table 1 のように全例41才以上の老年者である。疾患の種類および基礎疾患は Table 2, 3 に示すように、上部尿路感染2例(10%)、下部尿路感染18例(90%)であり、また泌尿器科的手術をうけたものは14例(70%)あり、そのうち2例(症例18, 20)が留置カテーテル使用中のものであった。手術をうけなかったものは6例(30%)で、そのうち留置カテーテル使用中のものは2例(症例8, 19)であった。手術をうけた症例中、留置カテーテルを使用していない症例で残尿が20ml以上あったものは3例あり、いずれも前立腺肥大症の凍結手術後の症例である。症例には糖尿病など代謝性基礎疾患を有しているものはなかった。治験開始前の起炎菌は Table 4 のように *Pr. mirabilis* が最も多く、次いで *Pr. vulgaris*, *Pseudomonas*, *E. coli* の順であり、グラム陰性桿菌は17株(85%)、グラム陽性球菌は3株(15%)であった。その感受性検査の成績は CBPC に対するディスク感受性で(++)13株(65%)、(++)3株(15%)、(+)2株(10%)、(-)2株(10%)であり、MIC では12.5 µg/ml 以下13株(65%)、25~50 µg/ml 4株(20%)、100 µg/ml 3株(15%)であった (Table 11)。

Table 1 Composition of patients

Sex			Age		
Male	18		41~59	5	
Female	2		60~	6	
			70~	8	
			80~	1	
Total	20		Total	20	

Table 2 Classification of diseases

Chronic cystitis	4
" pyelonephritis	2
Infection after prostatic operation	14
Total	20

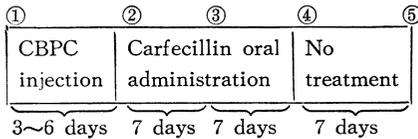
Table 3 Underlying diseases

Underlying diseases	No.	Catheter
Renal calculi	1	
Sponge kidney	1	(1)
Neurogenic bladder	1	(1)
Prostatic carcinoma	1	
Urethral stricture	2	
BPH postoperation	5	(1)
Prostatic carcinoma postoperation	2	
BPH postcryosurgery	6	(1)
Prostatic carcinoma postcryosurgery	1	
Total	20	(4)

Table 4 Organisms before treatment with CBPC

Organisms	No.
<i>Proteus mirabilis</i>	7
<i>Proteus vulgaris</i>	3
<i>Pseudomonas</i>	3
<i>E. coli</i>	3
<i>Citrobacter</i>	1
<i>Strept. faecalis</i>	2
<i>Staph. epidermidis</i>	1
Total	20

Fig. 1 Design of treatment



Note: Organisms were detected, counted and determined their sensitivity (MIC, Disc) at ①, ②, ③, ④ and ⑤ points.

Carfecillin の再発抑制効果をみるために、上に記すような一定の治療計画を設定した (Fig. 1)。有意の尿中細菌 (1 ml 中  $10^5$  コ以上の細菌数) を認めた泌尿器科の基礎疾患を有する症例に、CBPC を 1 日 4~10g を 1 日 2 回に分割して、筋注または静注にて 3~6 日間投与し、尿中細菌数が  $10^3$  コ以下になった症例に対して Carfecillin を 1 日 3~4g 経口投与し、1 週間ごとに尿中細菌数と菌種をチェックし、2 週間で休薬し、その後 1 週間してさらに菌の同定と菌数計算を行なって、再燃の有無を調査した。したがって全観察期間は 3 週間と CBPC 投与の 3~6 日である。この間、他の抗菌剤の併用はまったく行なわなかった。尿の採取方法はカテーテル使用者以外は中間尿を採取した。留置カテーテル使用者はすべて閉鎖式導尿法を行ない、カテーテルを穿刺して尿を採取した。証明された細菌のすべてに CBPC に対するディスク感受性と MIC を測定した。

### 判定基準

複雑性尿路感染症であるので自覚症状、発熱などはほとんど認められず、白血球増多を認めるものもまれである。尿路感染の主要な指標となりうる尿中白血球の推移は当然 follow したが、基礎疾患によって左右されることが多い。したがって効果の判定は純粋に、尿中細菌と細菌数の推移によって決定した。尿 1 ml 中細菌数  $10^5$  コ以上のものは細菌陽性、 $10^3$  コ以下のものを細菌陰性、その中間を細菌疑陽性とした。2 週間の Carfecillin 投与期間中 1 週間目で細菌数陽性のもは無効、1 週間目陰性または疑陽性、2 週間目で陽性になったものをやや有効、2 週間目も細菌陰性または疑陽性のもを有効とした。2 週間目で細菌陽性のもはその段階で他剤に変更し、2 週間目で細菌陰性または疑陽性のもは抗菌剤の投与を中止して 1 週間経過を観察し、その後細菌陽性となったものを再燃とした。

### 脱落例

今回の治験対象となった 20 例については副作用などによって投薬を中止した者も、途中で受診しなくなった

ものもなく、全例が治験を完結することができた。

### 成績

治験期間中の尿中細菌の推移および尿中細菌の Carbenicillin に対する感受性、尿中白血球の消長は Table 7, 8 に示した。

全体からみた治験成績は Table 5 のとおり、有効 12 例 (60%)、やや有効 5 例 (25%)、無効 3 例 (15%) であった。

有効例中再燃は 4 例 (33%) にみられた。やや有効および無効で治験前と同じ細菌の増生をみたものは 5 例、異なった細菌を証明したものは 3 例であった。再燃例は同種 2 例、異種 2 例であった。同種のものについては血清型を調べなかったため、再感染かまたは残存菌の増生か判定はできない。

Table 5 Recurrence suppression effect and recurrence pattern

	No.	Same organism recurrence	Other organism recurrence
Good	12	0	0
Fair	5	3	2
Poor	3	2	1
Recurrence	4	2	2

Table 6 Correlation of operation and recurrence suppression effect

	Operation			No operation
	Open surgery	Cryosurgery	Total	
Good	6	3	9	3
Fair	1	3	4	1
Poor	0	1	1	2
Recurrence	2	2	4	0

基礎疾患別にみると、Table 6 に示すように手術を行なった 14 例中、有効 9 例 (64%)、やや有効 4 例 (29%)、無効 1 例 (7%)、手術をしなかった 6 症例では有効 3 例 (50%)、やや有効 1 例 (17%)、無効 2 例 (33%) であった。カテーテルの有無による Carfecillin の成績は Table 9 に示したとおりであるがカテーテル使用例が少ないため評価は困難である。

CBPC 注射前起炎菌別では Table 10 のように、*Pr. mirabilis* は 7 株全例とも有効であり、*Pr. vulgaris* は有効 1 株、やや有効 2 株であった。*E. coli* はやや有効 1 株、無効 2 株であった。*Pseudomonas* はやや有効 2 株、無効 1 株であったが、CBPC 投与により 2 例では

Table 7 Clinical case

Case	Sex	Age	Underlying diseases	Catheter	Dose of CBPC (g)	Day of administration	Dose of carfacillin (g/time × time/day)	WBC in urine				Effect	Recurrence	Side effect
								Before CBPC	After CBPC	During carfacillin (1 week)	After carfacillin			
1 H. B.	♀	59	Urethral stricture	-	4	5	1 × 3	++	+	+	+	+	Poor	Nausea Anorexia
2 T. T.	♂	78	Prostatic carcinoma postoperation	-	10	6	1 × 3	+	+	+	+	+	Good	-
3 K. M.	♂	61	"	-	10	4	1 × 4	++	+	+	+	+	Good	-
4 K. M.	♀	41	Urethral stricture	-	4	6	1 × 3	++	±	±	±	±	Good	-
5 S. K.	♂	67	BPH postoperation	-	4	4	1 × 3	++	±	±	±	±	Good	-
6 K. I.	♂	74	BPH post-cryosurgery	-	10	5	1 × 3	+	+	+	+	+	Fair	-
7 K. H.	♂	79	"	-	4	4	1 × 3	++	+	±	±	±	Good	-
8 K. O.	♂	54	Sponge kidney	+	4	6	1 × 3	+	+	+	+	+	Poor	Nausea Anorexia Epigastric pain
9 S. I.	♂	58	Prostatic carcinoma	-	4	4	1 × 4	+	±	-	-	-	Good	-
10 M. T.	♂	64	BPH postoperation	-	4	5	1 × 3	+	+	±	±	±	Good	-
11 S. I.	♂	68	"	-	4	5	1 × 3	++	+	+	+	+	Good	-
12 K. I.	♂	75	BPH post-cryosurgery	-	4	5	1 × 3	+	+	+	+	+	Fair	-
13 S. N.	♂	72	"	-	4	4	1 × 3	+	+	+	+	++	Fair	-
14 T. I.	♂	75	Prostatic carcinoma post-cryosurgery	-	10	4	1 × 3	+	+	+	+	++	Poor	-
15 M. T.	♂	76	BPH post-cryosurgery	-	4	6	1 × 3	+	+	±	±	-	Good	-
16 Y. E.	♂	54	Renal calculi	-	4	3	1 × 3	+	±	±	±	-	Good	-
17 G. K.	♂	68	BPH postoperation	-	4	4	1 × 3	+	±	±	±	++	Good	-
18 S. A.	♂	78	"	+	10	6	1 × 3	+	±	±	±	+	Fair	-
19 Y. T.	♂	61	Neurogenic bladder	+	10	6	1 × 4	++	±	±	±	+	Fair	-
20 M. N.	♂	81	BPH post-cryosurgery	+	6	5	1 × 3	+	±	+	+	+	Good	-

Table 8 Change of

Case	Before CBPC			After CBPC		
	Organism	No. of organism	Sensitivity (Disc/MIC)	Organism	No. of organism	Sensitivity Disc/MIC
1 H. B. ♀	<i>E. coli</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/12.5	0	0	
2 T. T. ♂	<i>Pr. mirabilis</i>	10 <sup>5</sup> ↑	-/100	0	0	
3 K. M. ♂	<i>Pr. mirabilis</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/1.56	<i>Pr. mirabilis</i>	3.6 × 10 <sup>2</sup>	++/1.56
4 K. M. ♀	<i>Pr. mirabilis</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/1.56	0	0	
5 S. K. ♂	<i>Staph. epidermidis</i>	10 <sup>5</sup>	++/1.56	<i>Staph. epidermidis</i>	800	++/1.56
6 K. I. ♂	<i>Pr. vulgaris</i>	10 <sup>5</sup> ↑	-/100	<i>Pr. vulgaris</i>	680	-/100
7 K. H. ♂	<i>Strept. faecalis</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/1.56	<i>Strept. faecalis</i>	290	++/1.56
8 K. O. ♂	<i>E. coli</i>	10 <sup>5</sup> ↑	+ /50	<i>E. coli</i>	860	++/12.5
9 S. I. ♂	<i>Pr. mirabilis</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/1.56	0	0	
10 M. T. ♂	<i>Pr. mirabilis</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/1.56	<i>Pr. mirabilis</i>	7	++/1.56
11 S. I. ♂	<i>Citrobacter</i>	10 <sup>5</sup> ↑	+ /25	<i>Citrobacter</i>	210	+ /25
12 K. I. ♂	<i>Pr. vulgaris</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/0.78	<i>Pr. vulgaris</i>	760	++/25
13 S. N. ♂	<i>E. coli</i>	10 <sup>5</sup>	++/6.25	<i>E. coli</i>	360	++/6.25
14 T. I. ♂	<i>Pseudomonas</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/50	<i>Citrobacter Enterobacter</i>	210	-/100 ↑ -/100 ↑
15 M. T. ♂	<i>Pr. mirabilis</i>	10 <sup>5</sup>	++/0.78	<i>Pr. mirabilis</i>	200	++/50
16 Y. E. ♂	<i>Pr. mirabilis</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/0.39	<i>Pr. mirabilis</i>	190	++/0.39
17 G. K. ♂	<i>Strept. faecalis</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/0.78	<i>Strept. faecalis</i>	680	++/6.25
18 S. A. ♂	<i>Pseudomonas</i>	10 <sup>5</sup>	++/50	0	0	
19 Y. T. ♂	<i>Pseudomonas</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/100	0	0	
20 M. N. ♂	<i>Pr. vulgaris</i>	10 <sup>5</sup> ↑	++/1.56	0	0	

organisms

During carfecillin (1 week)			After carfecillin			1 week after carfecillin		
Organism	No. of organism	Sensitivity (Disc/MIC)	Organism	No. of organism	Sensitivity (Disc/MIC)	Organism	No. of organism	Sensitivity (Disc/MIC)
<i>E. coli</i>	10 <sup>5</sup> ↑	‡/12.5	<i>E. coli</i>	10 <sup>5</sup> ↑	‡/12.5			
0	0		<i>Pr. mirabilis</i>	50	+ /100	0	0	
0	0		<i>E. coli</i>	90	- /100 ↑	<i>Pr. mirabilis</i>	10 <sup>5</sup> ↑	‡/1.56
0	0		0	0		0	0	
<i>Candida</i>			<i>Candida</i>			<i>Candida</i>		
<i>Pr. vulgaris</i>	150	- /100 ↑	<i>Pr. vulgaris</i>	10 <sup>5</sup> ↑	- /100 ↑			
0	0		0	0		<i>Enterobacter</i>	10 <sup>5</sup> ↑	- /100 ↑
<i>E. coli</i>	10 <sup>5</sup> ↑	- /100	<i>E. coli</i>	10 <sup>5</sup> ↑	- /100			
0	0		0	0		0	0	
0	0		0	0		0	0	
0	0		<i>Pr. vulgaris</i>	8	+ /25	0	0	
0	0		<i>Pr. vulgaris</i>	10 <sup>5</sup> ↑	‡/6.25			
0	0		<i>E. coli</i>	10 <sup>5</sup>	‡/50			
<i>Klebsiella Serratia</i>	10 <sup>5</sup> ↑	- /100 ↑ - /100 ↑	<i>Klebsiella Serratia</i>	10 <sup>5</sup> ↑	- /100 ↑ - /100 ↑			
0	0		0	0		0	0	
0	0		0	0		0	0	
0	0		0	0		<i>Klebsiella</i>	10 <sup>5</sup> ↑	- /100 ↑
0	0		<i>Citrobacter</i>	10 <sup>5</sup> ↑	- /100 ↑			
0	0		<i>Klebsiella</i>	10 <sup>5</sup> ↑	- /100 ↑			
<i>Pr. vulgaris</i>	20		0	0		<i>Pr. vulgaris</i>	10 <sup>5</sup> ↑	‡/6.25

Table 9 Correlation of catheter and recurrence suppression effect

	Good	Fair	Poor	Total	Recurrence
No catheter	11	3	2	16	3
Catheter	1	2	1	4	1
Total	12	5	3	20	4

Table 10 Organisms and recurrence suppression effect

	Good	Fair	Poor	Total	Recurrence
<i>Pr. mirabilis</i>	7	0	0	7	1
<i>Pr. vulgaris</i>	1	2	0	3	1
<i>Pseudomonas</i>	0	2	1	3	0
<i>E. coli</i>	0	1	2	3	0
<i>Citrobacter</i>	1	0	0	1	0
<i>Strept. faecalis</i>	2	0	0	2	2
<i>Staph. epidermidis</i>	1	0	0	1	0
Total	12	5	3	20	4

菌が消失, 1例では *Citrobacter*, *Enterobacter* ( $10^8$ コ/ml) に交代しており, さらに Carfecillin にきりかえてからも3例とも *Citrobacter*, *Klebsiella* は分離されたが, *Pseudomonas* の再現はみていない。また残りの17例においても *Pseudomonas* の出現はみていない。

MIC の分布の変化を Table 11 に示した。CBPC 注射によって治療したのち  $10^8$ コ以下の細菌を認めた13株の MIC を治療前と比較すると, MIC 不変は8株, MIC が高くなったもの3株, よくなったもの1株, すで

に他の2菌種を認めたもの1株であった。Carfecillin による再発抑制期間中に証明された菌株の MIC はすべて  $6.25 \mu\text{g/ml}$  以上であり, その菌株の治療前の MIC は1株を除いて  $6.25 \mu\text{g/ml}$  以上であった。

#### 副作用

Carfecillin 投与によって胃腸障害を訴えたものが2例(症例1:6日目, 症例8:3日目)あり, プリンペランを併用しながら投与続行した。その他に明らかな副作用は認めなかった。

血清酵素中 GOT, GPT, アルカリフォスファターゼの変動はそれぞれ Fig. 2~4, BUN の変動は Fig. 5 に示したとおりであり, 異常変動は認められなかった。

#### 考 按

慢性複雑性尿路感染症の治療は, 尿路内に異物または死腔が存在するゆえ, ひじょうに困難である。このような場合には大量の化学療法剤を注射することによって治療することが一般に行なわれているが, 一時的に細菌が陰性になっても, 死腔内または異物に付着している細菌をすべて除去したことを意味するものではない。しかし, それゆえに注射療法を長期間続けることは実際の臨床治療上困難であり, 長期間継続容易な, 副作用の少ない内服剤に切り換えて再発を抑制する方法が意義あることとなる。今回われわれは20例の当該疾患に対して CBPC 注射で治療したのちの, Carfecillin の再発抑制効果を検討した。

Carfecillin 投与期間中に細菌陰性であったものは全体の60%であり, そのうち33%が Carfecillin 投与中止後1週間で細菌陽性となっている。慢性尿路感染の治療

Table 11 Change of MIC distribution

	$\leq 0.79$	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	$> 100$
Before CBPC	○○○ ○	○○○ ○○○ ○		○	○	○	○○ ○	○○	
After CBPC	○	○○○ ○		○●	◎	○●	●	○	▲
After carfecillin (failure of suppression)				●	○		●		▲▲▲ ●●
Before CBPC of failure-suppression case	○			○	○	○	○○	○○	
Reinfected cases		○		●					▲●
Before CBPC of reinfected cases	○	○○○							

○ MIC Similar    ◎ MIC Improvement    ● MIC Aggravation    ▲ Organism changed

Fig. 2 GOT

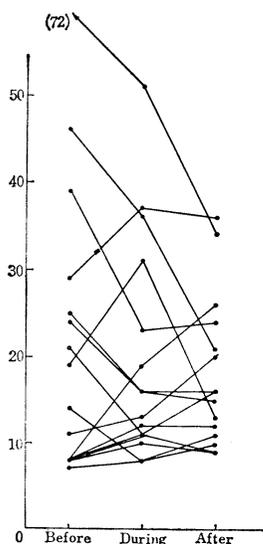


Fig. 3 GPT

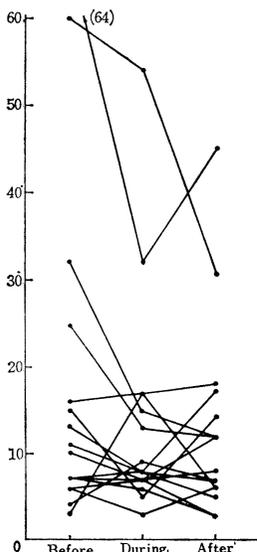


Fig. 4 Alkaline phosphatase

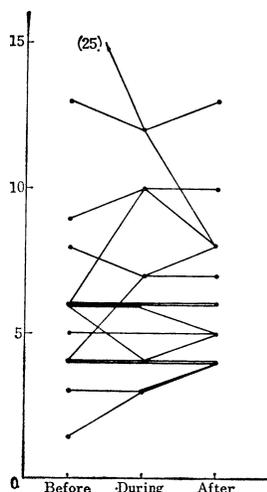
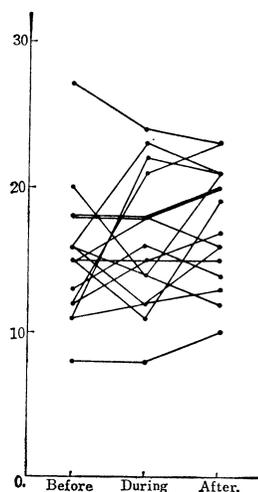


Fig. 5 BUN



効果を検討するには、化学療法剤と細菌との関係だけでなく、基礎疾患の状態についても考慮をはらう必要がある。さらに Carfecillin は経口投与剤であるので患者個人の投与された Carfecillin の吸収および排泄の状態も問題となる。

本治験対象となった起炎菌は CBPC 感受性のある *Proteus* 属, *Pseudomonas* などであるが、CBPC の初期治療が有効でなければならないというのが本治験の第 1 条件であるため、当然の結果である。対象となった細菌の CBPC に対する MIC も  $1.58 \mu\text{g/ml}$  以下のものが多い。そして CBPC に対する感受性のよくない菌株ほど再発抑制が不成功であったり、のちの再燃をきたしやすいことは、これらの起炎菌の MIC がほとんどすべて (88%) が  $6.25 \mu\text{g/ml}$  (CBPC) 以上であったことから明らかである。

基礎疾患の薬剤効果におよぼす影響は大きい。*Pseudomonas* の 3 例はいずれも CBPC 1 日 10g 投与で尿中から消失しているが、留置カテーテル使用例および前立腺癌の凍結手術後の残尿を有する症例であったため、Carfecillin 投与中に CBPC に耐性の *Klebsiella* または *Citrobacter* の感染をうけている。泌尿器科手術をうけた症例でも、尿路通過障害が完全に除かれている前立腺切除術後の感染では Carfecillin の効果は良好で、7 例中 6 例が有効、1 例がやや有効であるが、姑息的治療である前立腺凍結術後の感染では、7 例中 4 例がやや有効ないし無効であり、両者はその両極に位している。この

ことは尿路感染症慢性化に下部尿路通過障害が大きな役割を演じており、抗菌剤の効果もこの基礎疾患の影響をまぬがれないことを示すものといえよう。

患者側の因子をみると、今回の対象となった 20 例は、いずれも 50 才以上の高齢者であり 70 才代が最も多い。Carfecillin の高齢者における吸収、排泄の状態は明らかでないが、腎機能の年令的低下を考慮すると若年者より劣るといわねばならない。今回 3 例に同一菌種の再増生を Carfecillin 投与中に認めた。これは CBPC 大量投与で一時的に菌数を減少させ得たが、Carfecillin が有効血中濃度または尿中濃度に達しなかったため、再発を抑制することができなかったものと思われる。Carfecillin 1 日 4g 投与では CBPC の注射によって得られる血中濃度、尿中濃度を維持することは不可能であり、ここに経口投与剤の限界があると思われる。

## 結 語

1. 慢性複雑性尿路感染症に対して CBPC 注射により起炎菌を消失ないし、 $1 \text{ ml}$  中  $10^8$  コ以下におさえることのできた症例 20 例に Carfecillin を 1 日 3~4g 投与し、その再発抑制効果を検討した。

2. Carfecillin の再発抑制効果が有効であったものは 12 例 (60%)、やや有効 5 例 (25%)、無効 3 例 (15%) であった。

3. 起炎菌別にみると、グラム陰性桿菌では *Pr. mirabilis* (7 株) が最も多く分離され成績もよく全例有効、次いで *Pr. vulgaris* (3 株)、*Pseudomonas*, *E. coli*

の順であった。球菌（3株）に対してはともに有効であった。

4. Carfecillin 投与中に治療開始前と同種菌が証明されたものは8例中5例（63%）、異種菌が証明されたものは3例（37%）であり、治療開始前に比してCBPCに対するMICは一定の傾向を示さなかった。

5. 本実験により慢性複雑性尿路感染症を注射剤で治療後、Carcfecillinに切り換えて再発を抑制する治療法が、下部尿路通過障害が除かれた症例ではきわめて良好な効果が得られ、また通過障害が残存している症例でもある程度の効果が期待できることが証明された。

6. Carfecillin 投与により、胃腸障害が2例みられたが、重篤な副作用は認められなかった。

#### 文 献

1. LEES, L. J. & J. W. HARDING: Urinary tract infections in general practice, a preliminary trial of carfecillin. Brit. J. Clin. Practice 28: 349~352, 1974
2. 第22回日本化学療法学会西日本支部総会：ラウンドテーブルディスカッション“Carcfecillin”, 1974（徳島）

## THE RECURRENCE SUPPRESSION EFFECT OF CARFECILLIN IN COMPLICATED CHRONIC URINARY TRACT INFECTION

KOZI OBATA, HIROSHI NATSUME, TATSURO MURASE,  
NOBUAKI HONDA and MASASHI ANDO  
Department of Urology, Nagoya First Red Cross Hospital

The recurrence suppression effect of carfecillin was examined in twenty patients suffering from complicated chronic urinary tract infection.

Carcfecillin was administered at daily dose of 3 or 4 g for two weeks after the effective treatment of carbenicillin. Urinary organisms isolated from the patients were 7 *Proteus mirabilis*, 3 *Proteus vulgaris*, 3 *Pseudomonas*, 3 *E. coli*, 1 *Citrobacter*, 1 *Staph. epidermidis* and 2 *Strept. faecalis*.

Good effect was observed in 12 patients, moderate effect in 5 patients and poor effect in 3 patients.

MIC of CBPC for the organisms in the effective cases were mostly below 1.58 µg/ml.

MIC of organisms increased during carfecillin treatment in 2 cases of *E. coli* and 1 case of *Proteus vulgaris*, decreased in 1 case of *Proteus vulgaris* and unchanged in 1 case of *E. coli*.

No serious side effect of carfecillin was observed in this series.