

当科における 1968 年から 1974 年間の分離菌種の  
年次的変動と化学療法剤感受性の変遷

大野 虎之進

慶応義塾大学医学部講師

東京歯科大学市川病院産婦人科部長

高 島 弘

東京歯科大学市川病院産婦人科医長

(昭和 51 年 10 月 21 日受付)

I. はじめに

1929 年の FLEMMING による Penicillin の発見以来、1972 年までに発表された化学療法剤の総数は 133 種で、その内訳は、サルファ剤 27 種、抗生物質 95 種、抗結核剤 11 種であるが<sup>1)</sup>、これらの薬剤をもととした化学療法の進歩は、今世紀における Nuclear science のそれと同様に、感染症に対するその卓越した効果は、種々の問題を含みながらも、人類に貢献したところ大であるといっても過言ではないであろう。

事実、産科領域においても産褥熱の年次的変遷をみても、たとえば Melbourne の HILL は産褥熱の発生は 1931 年には 340 例の分娩に対して 1 例であるが、1960 年には 36,000 例に 1 例と減少していることを報告し、DOUGLAS, STROMME は New York Hospital における本症の発生頻度が 1934 年には 11.2% であったものが、1956 年には 1.4% に減少していると調査の結果を示している<sup>2)</sup>。

一方、本邦においても、産褥熱の発生率は 1965 年の真柄の調査によると、化学療法以前：10.7% に比し、サルファ剤期：6.6%、抗生物質期：1.5% であり、また産褥熱による死亡率の推移を厚生省統計からみると、化学療法以前：0.066% に比し、サルファ剤期：0.028%、抗生物質期：0.011% と漸減している<sup>3)</sup>。

本邦はもとより、世界的な傾向であるが、グラム陰性桿菌が感染症の起炎菌として、グラム陽性球菌に代って台頭し始めたのは、各地域、各臨床領域別によって多少の时期的な差異はあっても、概ね 1960 年前後からであろうと思われる。

われわれは、産婦人科临床上、日頃からこの点に注目しており、その変遷を見守り感染症治療上 1 つの指標としてきているが、1968 年から 1974 年までに、東京歯科大学市川病院産婦人科において分離された細菌の経時的な様相、ならびに一部の化学療法剤のそれらに対する感受性の変動に関してまとめてみたところ、ある傾向を見

出したのでここに報告する。

II. 当科における細菌分離株の変遷

1. 調査方法

調査年度は、1968 年、1970 年、1972 年ならびに 1974 年の 2 年毎であり、検体採取部位の如何を問わずに、当科における分離株の全てを集計し、百分率で現わした (Fig. 1)。なお、嫌気性菌に関しては、分離件数が少ないので今回の集計からは除外した。

2. 調査結果

Fig. 1. において、グラム陽性球菌群と、グラム陰性

Fig. 1 Trend of the isolation frequency of pathogens in Dept. of Obstetrics & Gynecology, Tokyo Dental College, Ichikawa Hospital, 1968~1974

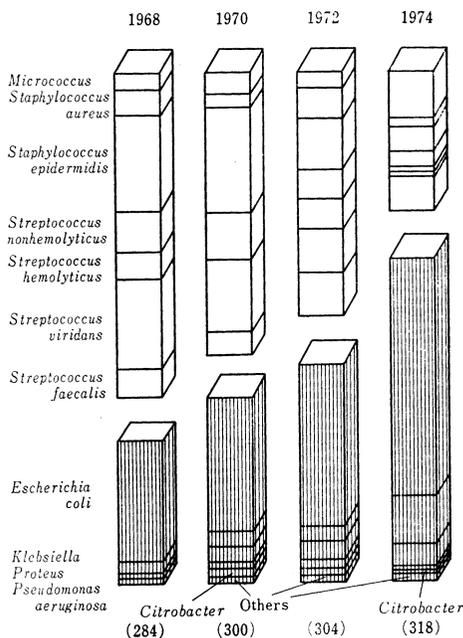
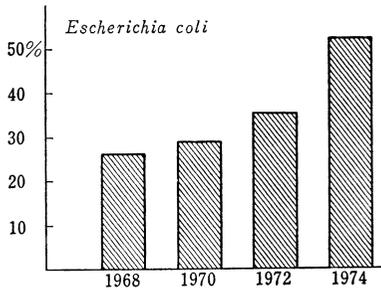


Fig. 2 Annual isolation frequency of *Escherichia coli*, 1968~1974



桿菌群（縦線の部）と2つに大別した結果では、グラム陰性桿菌群は、1968年には、全体の30.96%であったものが、1970年には39.0%，1972年43.37%，1974年には遂に69.49%（約70%）と増加している。

このグラム陰性桿菌群の増加傾向の主体をなすものは、*Escherichia coli*であり、1968年の25.81%のものが、1970年28.5%，1972年34.87%と増加してきているが、1974年には遂に全分離株に対する割合では、その半数を超える52.83%を示し（Fig. 2）、これについて *E. coli* ほどでないにしても *Klebsiella* も増加傾向を示しており、1968~1974年間の2年毎のそれぞれは、2.58%，3.5%，3.29%，9.43%であるが、*Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*などはさほどの変動をみせていない。ことに *P. aeruginosa* の分離数の増加がみられなかったことは、当科における臨床まことに幸いなことと考えられるが、今後の推移に関しては十分に注目しなければならないと考える。

なお少数ながら、*Citrobacter* の分離も散見されている。

一方、グラム陽性球菌群の1968年以降の変遷は、当科における全分離株の百分率において、1968年には全体の69.03%であったものが、1970年61.0%，1972年52.63%，と次第に減少し、1974年には全分離株の約1/3の30.5%とグラム陰性桿菌群と逆転している。

そして今回の調査では、*Staphylococcus*, *Streptococcus* の変遷については興味ある結果を得た。

すなわち、*Staphylococcus aureus* では、1968年4.84%，1970年3.0%，1972年5.92%，1974年1.89%となっており、*Staphylococcus epidermidis* のそれはそれぞれ20.65%，23.0%，13.6%，5.35%と減少している（Fig. 3）。

また、*Streptococcus nonhemolyticus* では、1968年の8.71%，1970年10.0%，1972年5.92%，1974年2.83%と減少し、*Streptococcus hemolyticus* ではそ

Fig. 3 Annual isolation frequency of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, 1968~1974

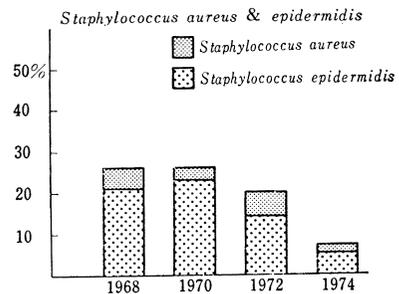
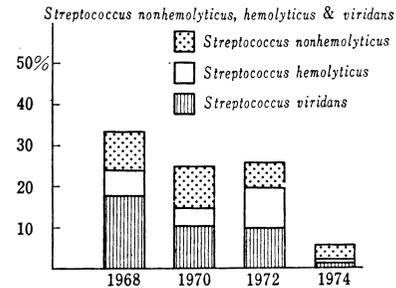


Fig. 4 Annual isolation frequency of *Streptococcus nonhemolyticus*, *Streptococcus hemolyticus* and *Streptococcus viridans*, 1968~1974



れぞれ、6.13%，4.5%，9.87%，0.63%という経過を示し、*Streptococcus viridans* では、それぞれ、17.42%，10.0%，9.21%，1.89%という減少傾向が認められる（Fig. 4）。

これに反して *Micrococcus* は、1968年3.87%，1970年4.5%，1972年3.95%とだいたい3~4%台であったものが、1974年には10.83%と増加していることは注目に値する。

またさらに *Streptococcus faecalis* (*Enterococcus*) の変遷は、それぞれ7.42%，5.0%，6.58%，7.52%を示しており、*Micrococcus* とこの *Enterococcus* の将来の動向は興味のあるところである。

### 3. 小 括

往時、化学療法以前の感染症の主体をなす起因菌としては、各種のいわゆる伝染病の病原微生物を除外して考えれば、グラム陽性球菌、なかでもブドウ球菌、連鎖球菌などであり、それらはかなりの猛威を振るい、産婦人科領域においても産褥熱の起因菌として、周産期母体死

亡の原因となったり、また重篤な付属器炎、ひいては骨盤腹膜炎を惹起していたことは言うまでもないが、今回の調査では前述のように、ブドウ球菌、連鎖球菌の分離される割合が減少し、これらに代ってグラム陰性桿菌の分離される割合が増加しているという傾向がみられた。

### III. 化学療法剤耐性株の変遷

感染症の治療にあたっては、化学療法を第1義的に行なうことについては論をまたないところであるが、分離株の化学療法剤に対する感受性の有無について検索した結果に基づいて、適切な薬剤の投与がなされることが肝要であり、それらの動向を常に熟知していることは臨床上意義のあることと考える。

そこで、われわれは前項で紹介した1968~1974年に当科で分離された細菌について、一部の化学療法剤に対する感受性の成績についても検討してみた。

#### 1. 調査方法

今回、調査の対象とした化学療法剤は、Ampicillin (ABPC), Cefalexin (CEX), Cefaloridine (CER), Nalidixic Acid (NA), Kanamycin (KM), Streptomycin (SM) の6種である。

感受性試験の方法は、当院中央臨床検査室微生物検査室において常用している3濃度 disk 法によった。

そして、以下図の中で年次別の耐性菌の出現率は点線で結び、感受性(卅)を示したもののそれは実線で図示した。なお、感受性(卍)および(十)は線が錯綜することを恐れて省略した。

#### 2. 調査結果

##### A. グラム陰性桿菌群

##### (1) *Escherichia coli* (Fig. 5)

*E. coli* に対する ABPC の耐性菌の出現率は、1968年には5.6%、1970年12.9%、1972年15.7%、1974年には19.9%、と増加の傾向を示しているが、CEXに

おいては、それぞれ、0.8%、9.5%、5.4%、5.7%であり、CERでは、5.2%、3.4%、17.5%、11.5%とやはり増加の傾向がみられる。

*E. coli* に対する ABPC の3濃度 disk 法で調査した結果における感受性(卍)の場合、1968年81.5%であったものが、1970年72.6%、1972年51.2%、1974年65.8%と、最近では50~60%台になっており、CEXの場合でも95.2%、76.6%、62.5%、60.8%を占めているのに過ぎないという傾向を示しているが、CERの場合には、91.4%、88.9%、72.5%、82.3%とあまり大きな変動はみられていない。

一方、Aminoglycoside 系抗生物質の SM に対しては、3.5%、11.8%、12.5%、14.6%とその耐性株は漸増しており、KMにおいては、0%、8.8%、5.7%、0%となっている。ここでとくに SM の感受性(卍)の傾向をみると、1968年には73.4%であったものが、69.8%、62.4%と漸減し、1974年には遂に51.5%となっている。

しかし、KMでは89.3%、79.2%、85.4%、90.6%と感受性は良い。

NAに対しては、その耐性菌の出現率は、1968~1974年の2年毎の調査では、それぞれ、1.3%、4.3%、20.0%、3.0%であり、感受性(卍)の頻度も、90.3%、84.5%、72.5%、97.0%と有効性に変化がみられない。

##### (2) *Klebsiella* (Fig. 6)

*Klebsiella* に対する ABPC 耐性菌の出現率は、同様の年代において、2.1%、9.3%、78.8%、83.3%と急激な増加傾向をみせ、したがって感受性(卍)のものは、69.8%、49.5%、0%、4.2%と当然のことながら耐性菌の出現率と反比例して減少しており、当科における分離株中の *Klebsiella* の ABPC に対する有効性は *in vitro* では失われてきていると見られる結果となって

Fig. 5 Trend of susceptibility of *Escherichia coli* to some antimicrobial agents, 1968~1974

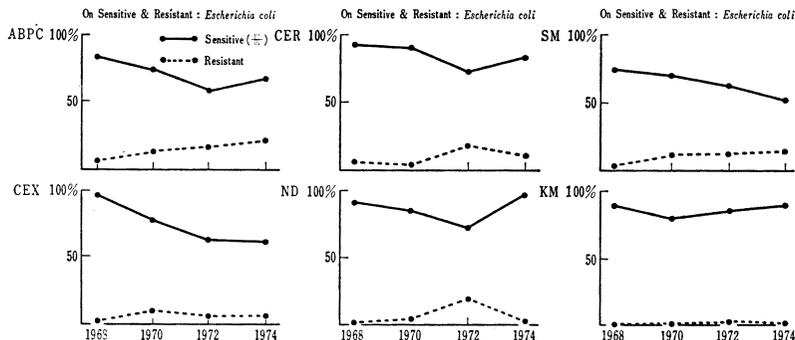


Fig. 6 Trend of susceptibility of *Klebsiella* sp. to some antimicrobial agents, 1968~1974

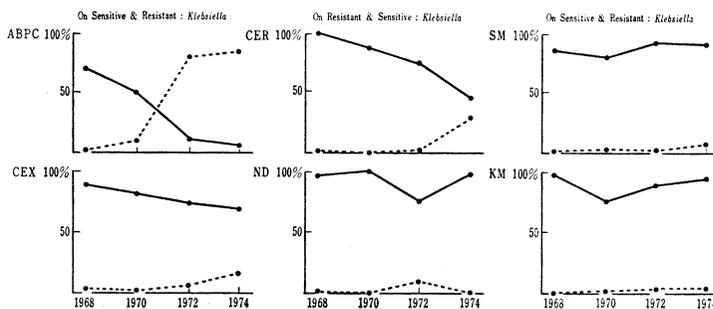
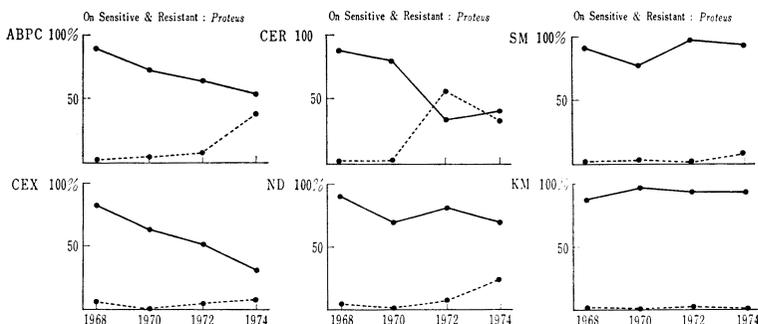


Fig. 7 Trend of susceptibility of *Proteus* sp. to some antimicrobial agents, 1968~1974



いる。

CEX の耐性菌の出現率は、3.0%、1.3%、4.8%、14.3% と次第に増加傾向を示しており、感受性(卅)の経過も、89.0%、82.3%、73.2%、67.9% と漸減傾向がみられる。

また、CER 耐性菌のそれは、1.3%、0.7%、2.1% と経過したものが、1974 年には一挙に 29.2% となり、感受性(卅)のものは、1968~1972 年台では、86~98% であったものが、74 年には 45.8% と激減してしまっている。

SM, KM のようなアミノ配糖体系抗生物質の場合、SM の耐性菌出現率は、全調査期間を通じて、1.6~7.2% 台で、感受性(卅)のそれも、約 80~90% 台と変化をみない。このうち同じくアミノ配糖体系抗生物質の KM の場合にも同様の傾向がみられる。

また NA に対しては、これらもまだに耐性菌の出現は少なく、したがって感受性も非常に良いという結果を得ている。

### (3) *Proteus* (Fig. 7)

*Proteus* の ABPC 耐性菌の出現率は、2.3%、4.6%、

8.1%、38.5% と最近急上昇の傾向を示し、ABPC 感受性(卅)の *Proteus* のそれは 89.1%、72.5%、64.1%、53.8% と減少している。CEX, CER などの Cephalosporin 系のもでも ABPC と同様の傾向がみられる。

一方、SM, KM の場合、同様にまだ耐性菌の出現は低く、これらの薬剤は、*Proteus* に対しては現在のところ *in vitro* において有効であると考えられる。

なお、NA ではその耐性菌の出現率は、4.8%、1.9%、7.1%、23.08% であり、感受性(卅)の菌は、89.8%、69.5%、80.5%、76.92% とやや低下の傾向がみられる。

なお、この調査では *Proteus vulgaris* と *P. mirabilis* とは分けずに集計し、また *P. morganii*, *P. rettgeri*, *P. inconstans* などの分離は少なかったため、集計から除外したことを付記する。

### (4) *Pseudomonas aeruginosa*

なお、*P. aeruginosa* は臨床上好いことに分離されたものが少なく、対象数が少ないのでこれも今回の集計から除いたが、やはり、アミノ配糖体系抗生物質のなかでも Gentamicin, Dibekacin に対しては、いまだに耐

性の獲得が少なく、これらの薬剤が有効であるという印象を得た。

#### B. グラム陽性球菌群

グラム陽性球菌群の場合、紙面の都合もあるので、ごくその一部を報告するととどめる。

##### (1) *Staphylococcus aureus* (Fig. 8)

グラム陽性球菌群のうちで、いまだに院内感染の起原菌として猛威を振ることのある本菌を採り上げてみた。

ABPC に対する耐性株の出現の割合は、17.4%, 1.6%, 33.3%, 33.3% であり、感受性(卍)株の変遷は、42.5%, 65.2%, 50.0%, 50.0% であり、頭初から耐性株が多い。

しかしながら、Cephalosporin 系の CEX, CER についての調査では、耐性株の出現はほとんどなく、本菌に対してこれらの薬剤は有効であると考えられる。

アミノ配糖体系の SM ではやや感受性が低い、KM では CEX, CER と同様に耐性株の出現は少なく、感受性株が多い。

##### (2) *Streptococcus hemolyticus* (Fig. 9)

溶連菌に対しては、ABPC, CER が強い抗菌力を示しており、これに反して CEX では次第に抗菌力の低下傾向を示しており、1974 年には 50% という値となっている。

また、SM, KM も急速に感受性株が減少しているこ

Fig. 8 Trend of susceptibility of *Staphylococcus aureus* to antimicrobial agents, 1968~1974

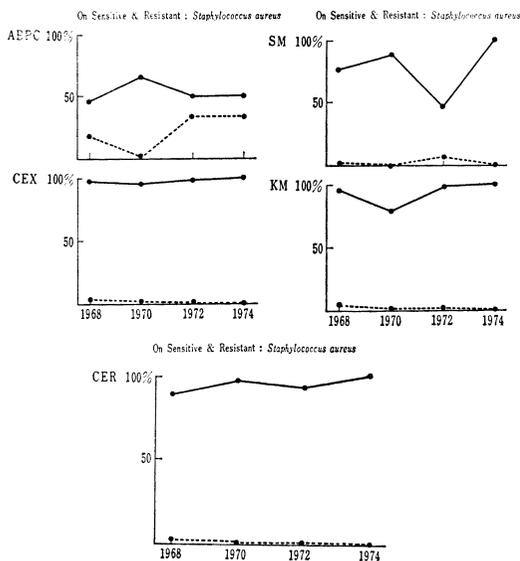
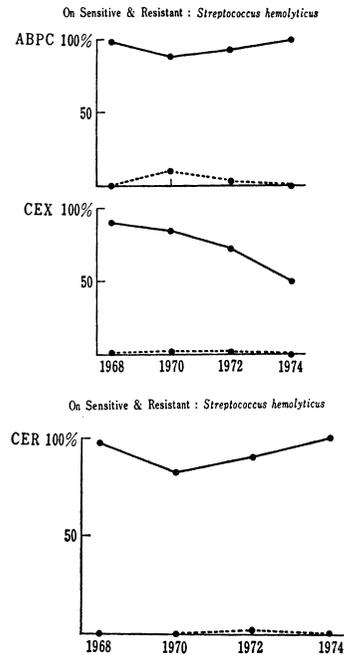


Fig. 9 Trend of susceptibility of *Streptococcus hemolyticus* to some antimicrobial agents, 1968~1974



とがわかる。

NA は元来グラム陽性球菌には抗菌力を示さないが、急速に感受性が低下している。

##### (3) *Streptococcus faecalis* (*Enterococcus*) (Fig. 10)

当科で分離されたグラム陽性球菌群のうちで、最近増加傾向の著しい本菌についてみると、ABPC 耐性菌の出現頻度は、7.6%, 1.2%, 4.4%, 15.0% で、感受性(卍)の株は、85.7%, 93.0%, 81.0%, 80.8% と比較的良いが、CEX の場合、耐性株の多いことはこの図からも明らかであり、したがって感受性株も少ない。CER の場合もそれほどでないにしても同様の傾向がみられる。

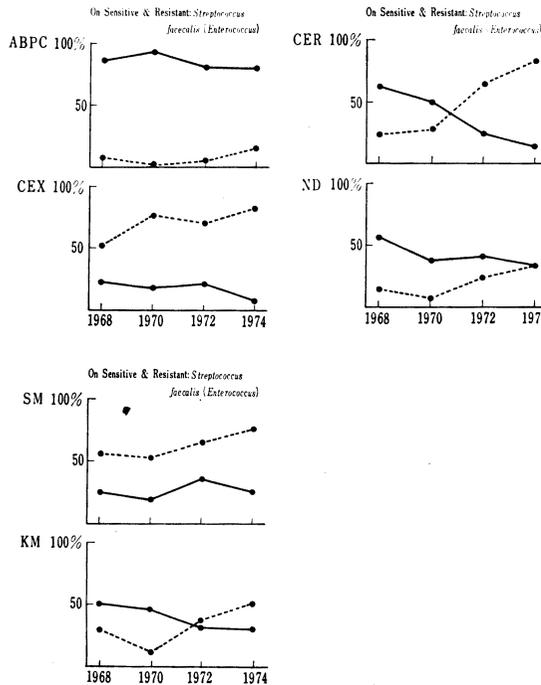
また、SM, KM では、1974 年で KM の耐性株は 75%, KM のそれは 50% であり、NA でも分離株の 1/3 は耐性株である。

したがって、*Streptococcus faecalis* には、この調査の時点では ABPC が有効であるという結果を得た。

#### 3. 小 括

1968~1974 年の当科で分離された細菌の、一部の化学療法剤の感受性ならびに耐性株の変遷に関して調査した結果は、前述のとおりであるが、やはり臨床応用に供された期間の永い薬剤ほど、耐性獲得傾向が大であり、周知の事実ではあるが、今日まで病原微生物の薬剤耐性

Fig. 10 Trend of susceptibility of *Streptococcus faecalis* to some antimicrobial agents, 1968~1974



と、新しい化学療法剤の開発との追いつ追われつの競走が、熾烈なものとなっていることを、裏書きしているものとする。

#### IV. 考 案

本来、化学療法ないし抗生物質療法は、微生物によって起る感染症の治療剤であり、しかもその作用が病原微生物に対して直接作用し、微生物の増殖を阻止し、あるいはそれらを殺滅するものであり、薬物療法から考えればすぐれた性格を持つものと言える。Penicillin に始まる抗生物質療法もすでに 30 年を越える歴史をもつが、その当初からいわゆる耐性菌の存在が知られていた。個体中心にみた場合に、抗生物質がすべての微生物を殺滅するという万能の力がない限り、抗生物質は一定の選別を行なうことになり、感性菌は減少あるいは消失して耐性菌は残存する。したがって、化学療法ないし抗生物質療法が広く行なわれる環境においては、これらの耐性菌による感染が惹起され易いことになる。この現象は広域スペクトル抗生物質が多用される今日、Community acquired infection と Hospital acquired infection との原因菌の差としてとらえられる。たとえば細菌性肺炎でも、一般社会環境でみられる肺炎原因菌は肺炎球菌が多いのに、院内で発生する肺炎では、肺炎桿菌、緑膿

菌、耐性ブドウ球菌などが問題になることが多い。

同様の背景から、グラム陰性桿菌を起因菌とする諸疾患が敗血症をはじめ各種の感染症において高率を示し、問題になりつつある。そのなかには分類、同定の手技、検出の努力の結果、*Serratia*, *Yersinia*, 嫌気性菌などの感染も注目されるようになって来ている<sup>4)</sup>。

松田<sup>5)</sup>も、1974 年に産褥熱の起炎菌の変貌として、第 2 次大戦前のそれとしては、好気性溶レン菌が重視され、ついで嫌気性菌の意義が重視されていたが、順天堂大学産婦人科学教室での 1957 年以降の起炎菌の変遷の再検討では、溶レン菌、ブドウ球菌は年次的に減少傾向を辿り、これに反して近年では弱毒性のグラム陰性桿菌(大腸菌が主で、これに変形菌、緑膿菌、クレブシエラなど)と嫌気性菌による感染の増加が特徴的で、グラム陰性桿菌に例をとると、1971~1972 年では 34.6% の割合に増加し、嫌気性菌と併せて 1971~1972 年では分離菌の 2/3 を占めている。すなわち、起因菌の面では強毒菌の衰退と弱毒菌の漸増傾向が著しいと述べている。

また、本田<sup>6)</sup>も、産褥時の子宮内に検出される細菌について、戦前の DOUGLAS (1934) ら、HITE (1947) らの報告と最近の WHITE (1973), SWEET (1973) ら、GIBBS (1975) らの報告を比較してみると、顕著な傾向が伺われ、すなわち 20 年以前の報告では、産褥子宮内膜炎の帯下の中に発見される菌は *Streptococcus* が最も多く、ついで *Staphylococcus*, *Bacteroides* などであり、*E. coli* などは 2~15% に検出されるに過ぎなかったが、近年の WHITE, SWEET らの調査によると、*E. coli* が産褥子宮内膜炎患者から分離同定された細菌の中では最も多いものであったと述べている。

著者<sup>7)</sup>も 1973 年に、往時産科領域において強菌力感染症として最も重要視されていた A 群溶レン菌による産褥熱や敗血症の発生頻度は非常に減少し、それらに代って、最近では大腸菌や変形菌、緑膿菌、肺炎桿菌などのグラム陰性桿菌と嫌気性菌による感染症が増加していることは明らかであると報告した。

芥川<sup>8)</sup>も、グラム陰性桿菌の検出率の増加が認められるとし、中でもとくに *Klebsiella* の増加は著しく、また弱毒グラム陰性桿菌である *Enterobacter*, *Citrobacter* 等も増加の傾向にある。*E. coli* はどちらかというところ減少気味であるがやはり検出率は高い。

一方、グラム陽性球菌についてみると、*Enterococcus* はさほどでないが、*Staphylococcus*, *Streptococcus* の検出率の低下がとくに注目される。このように近年グラム陰性桿菌、とくに *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus*, また *Serratia* といったものによる感染症が、1968 年と 1974 年の分離株の調査から、問題に

なっているとしている。

化学療法剤に対する耐性化の著しい菌種はブドウ球菌とグラム陰性桿菌であるが、松田<sup>9)</sup>は、産褥熱起炎菌の耐性推移を1963～1966年と1971～1972年の分離菌について比較した結果、ブドウ球菌では耐性は漸減しているが、広域抗生物質(PC, TC, SM, KM, CERなど)に対する耐性化が増加し、大腸菌でも広域抗生物質に対する多剤耐性のpatternが顕著であり、結局両菌種とも多剤耐性と感受性薬剤の面でそれぞれ特徴がみられ、また従来高度感受性株が普通といわれていた嫌気性菌のなかでも *Bacteroides* のように SM, KM のほか PC 系, Cephalosporin 系に近年著しい耐性の上昇がみられることは注目すべきであるとしている。

すなわち、以上のような諸家の報告も、われわれが行なった調査と類似した傾向を示している。

#### V. ま と め

本稿において、1968～1974年にわたる7年間の当科における細菌分離株と、一部の化学療法剤耐性株の変遷にかんして述べたが、一般的にグラム陰性桿菌、嫌気性菌のほか、真菌、またはウイルスによる感染症が増加していることは今日間違いないところである。しかし、それは各臨床領域別、また地域別には多少の差異もあるようであり、このことは耐性菌の出現の場合にもあてはまることでもあり、やはり、臨床医は当該診療施設、またその地域のそれらの特性を常に把握しながら、感染症の治療にあたるのが肝要と思われる。

本論文の要旨は昭和50年6月29日、日本産科婦人科学会千葉地方部会において報告した。

#### 文 献

- 1) 真下啓明：化学療法必携。改訂第3版，3，金原出版，東京，1977
- 2) HELLMAN, L. M. & J. A. PRITCHARD : Puerperal infection, Williams Obstetrics, 14th. ed., 971, ACC Educational Division/Meredith Corporation, New York, 1970
- 3) 青河寛次：産科領域におけるグラム陰性桿菌感染症。臨婦産 22 : 107, 1968
- 4) 真下啓明：感染症—最近の動向。12 : 1154, 1975
- 5) 松田静治：感染症—産科面から—。産と婦 41 : 1279, 1974
- 6) 本田 啓：産褥感染症。産婦治療 31 : 181, 1975
- 7) 大野虎之進, 高島 弘：産褥に関与する細菌とその動態。産婦の世界 25 : 1071, 1973
- 8) 芥川 甫：感染症の変遷，産婦人科感染症。実験治療 510 : 76, 1975
- 9) DOUGLAS, R. G. & H. S. PHEES : Bacteriologic findings in uterus during labour and the early puerperium. Amer. J. Obstet. Gynecol. 27 : 203, 1934
- 10) HITE, K. E.; H. C. HESSELTINE & L. GOLDSTEIN : A study of the bacterial flora of normal and pathologic vagina and uterus. Amer. J. Obstet. Gynecol. 53 : 233, 1947
- 11) WHITE, C. A. & F. P. KOONTZ :  $\beta$ -Hemolytic *Streptococcus* infections in postpartum patient. Obstet. Gynec. 41 : 27, 1973
- 12) SWEET, R. L. & W. J. LEDGAR : Puerperal infection morbidity. Amer. J. Obstet. Gynecol. 117 : 1093, 1973
- 13) GIBBS, R. S.; T. N. O'DELL, R. R. MACGREGOR, R. H. SCHWARZ & H. MORTON : Puerperal endometritis: a prospective microbiologic study. Amer. J. Obstet. Gynecol. 104 : 651, 1975
- 14) 大野虎之進, 高島 弘, 佐藤悠二, 赤塚正純：当科における尿路感染症に対する Nalidixic acid の最近分離株の感受性成績を中心として。現代の診療 16 : 417, 1974

THE ISOLATION FREQUENCIES OF VARIOUS BACTERIAL  
SPECIES AND THEIR RESISTANCES TO ANTIBIOTICS  
DURING A SEVEN-YEAR PERIOD IN  
A HOSPITAL (1968~1974)

TORANOSHIN OHNO

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Keio University

HIROSHI TAKABATAKE

Tokyo Dental College, Ichikawa Hospital

The isolation frequencies and the resistance to antibiotics of various bacterial species from patients in the Department of Obstetrics and Gynecology of Tokyo Dental College, Ichikawa Hospital were studied in 1968, 1970, 1972 and 1974.

Antibiotics used for the sensitivity studies included ; ampicillin (ABPC), cephalexin (CEX), cephaloridine (CER), nalidixic acid (NA), streptomycin (SM) and kanamycin (KM).

The results obtained were as follows :

1. The isolation frequency of gram-negative bacilli had increased from 30.96% in 1968 to 69.49% in 1974. Among many of the gram-negative bacilli, *E. coli* showed the most remarkable increase.
2. The isolation frequency of gram-positive cocci was 69.49% in 1968 and decreased to 30.50% in 1974.
3. Sensitive strains of gram-negative bacilli (*E. coli*, *Klebsiella*, and *Proteus*) to ABPC, CEX and CER have been decreasing yearly, but those to NA, SM and KM were almost unchanged.
4. The increased incidence of the resistance of *Staphylococcus aureus* to ABPC was noted, but incidence of the resistance of *Staphylococcus aureus* to CEX, SM and KM had not significantly increased.
5. *Streptococcus faecalis* has shown good sensitivity to ABPC, but the incidence of its resistance to CEX, CER, NA, SM and KM has rapidly increased.