

Симоненко Р. В.

Аналіз клінічної ефективності пробіотиків з роду *Bacillus* під час ортодонтичної корекції у пацієнтів з хронічним пародонтитом для зниження ризиків ускладнень

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна

Резюме. Попри досягнення сучасної медицини, лікування хронічного пародонтиту залишається надзвичайно складним завданням. Ортодонтична корекція як компонент комплексного лікування у деяких випадках значно покращує пародонтологічний статус пацієнтів, але несе ризики погіршення стану гігієни порожнини рота, що може призводити до інтенсифікації запального процесу. Тому пародонтологічна підтримувальна терапія та тривале спостереження також мають вирішальне значення для успіху лікування та тривалого збереження зубів.

Мета: обґрунтування місцевого застосування оригінальної лікарської композиції на основі високодисперсного силікагелю та бактерій штаму *Bacillus subtilis* B-7812(AX20) та *Bacillus licheniformis* IMB B-7811(EA22) для зниження ризиків розвитку ускладнень під час ортодонтичної корекції у пацієнтів, хворих на пародонтит.

Матеріали та методи. Під наглядом знаходились 30 пацієнтів основної групи (16 жінок і 14 чоловіків), та 18 пацієнтів (10 жінок і 8 чоловіків) контрольної групи, віком 25–60 років, із генералізованим пародонтитом 1–2 ступеню тяжкості, яким проводилась ортодонтична корекція за допомогою брекет-систем терміном до 2 місяців. Хворим основної групи ортодонтична корекція поєднувалась із місцевою медикаментозною терапією у вигляді самостійних полоскань, запропонованою лікарською композицією високодисперсного силікагелю та бактерій штаму *Bacillus subtilis* B-7812(AX20) та *Bacillus licheniformis* IMB B-7811(EA22) (0,02 кг силікагелю та по $2,5 \times 10^9$ КУО живих мікробних клітин у рівних частинах) 1 раз на день протягом місяця. Клінічну ефективність визначали шляхом визначення пародонтологічного статусу та оцінку стану гігієни порожнини рота визначали за допомогою індексів: ПІ (Ind. Russel) пародонтального індексу; ГІ (Ind. Silness-Loe) гінгівального індексу; ІГС (Ind. Greene a.Vermillion) індексу гігієнічного стану. Зазначені індекси розраховувались до, через 2 тижні, через 1 міс. та 2 міс. протягом ортодонтичного лікування.

Результати дослідження. Наші спостереження показали, що через 1 міс. в основній групі значно знизився ПІ, в середньому на 49,2 % від початкового рівня, ГІ знизився на 48,4 %, ІГС — на 63,4 %. Позитивний ефект спостерігався через 2 міс. ортодонтичного лікування (і 1 місяць після використання запропонованого засобу): ПІ (Ind. Russel) знизився в 1,85 раза, ГІ (Ind. Silness-Loe) вірогідно знизився у 2,6 раза, ІГС (Ind. Greene a.Vermillion) — у 3 рази. Для порівняння у контрольній групі ПІ знизився в 1,2 раза, ГІ — у 1,6 раза й ІГС — у 2,1 раза від початкового стану.

Висновки. Проведені дослідження показали, що запропонована лікарська композиція силікагелю та бактерій штамів *B. subtilis* B-7812(AX20) і *B. licheniformis* IMB B-7811(EA22) має виражену терапевтичну дію на тканини пародонту та значно покращує місцевий гігієнічний статус пацієнтів із хронічним пародонтитом, яким проводиться ортодонтична корекція незнімною апаратурою.

Ключові слова: хронічний пародонтит, пробіотики роду *Bacillus*, ортодонтична корекція, пародонтологічний статус, профілактика.

Актуальність

Попри досягнення сучасної медицини, лікування хронічного пародонтиту залишається надзвичайно складним завданням. Порушення балансу у мікробіомі ротової порожнини вважається провідним чинником, що впливає на виникнення та прогресування цього захворювання [1–3]. Підвищена вірулентність

зубного нальоту (що призводить до захворювання) пов'язана з екологією зубного нальоту, несприятливою для господаря та сприятливою для надмірного росту бактерій ротової порожнини, які мають патогенний потенціал. Ретельна діагностика, усунення причин і зменшення модифікованих факторів ризику є найважливішими для успішної профілактики та лікування хронічного пародонтиту [2, 3]. Концепція комплексного підходу

щодо вибору методів лікування пацієнтів із генералізованим пародонтитом залишається найбільш популярною серед фахівців. Після завершення початкової нехірургічної пародонтальної терапії можна використовувати сучасні регенеративні або традиційні резективні хірургічні методи лікування для видалення будь-яких залишкових ділянок з активним періодонтитом. А ортодонтична корекція, як компонент комплексного лікування, у деяких випадках значно покращує пародонтологічний статус пацієнтів, але несе ризики погіршення стану гігієни порожнини рота, що може призводити до інтенсифікації запального процесу [4, 5].

Особливі складності виникають у пацієнтів із дефектами зубних рядів, топографія яких може бути дуже різноманітною. Так, під час застосування незнімної апаратури (брекет-систем), погіршується можливість самоочищення, збільшується площа ретенційних пунктів для залишків їжі. У ході ортодонтичного лікування переміщення зубів відбувається перебудова кісткової тканини з активацією остеокластів, що може активізувати запальні процеси та знижувати резистентність до пародонтопатогенної мікрофлори [5, 6]. І хоча ортодонтичну корекцію варто проводити тільки після ретельної санації порожнини рота, зниження інфекційного навантаження на пародонт під час нехірургічних втручань буде мати важливе значення. А подальша пародонтологічна підтримувальна терапія та тривале спостереження також мають вирішальне значення для успіху лікування та тривалого збереження зубів. Зазвичай для якісної підтримувальної терапії призначаються протимікробні засоби, але можливості багатьох препаратів, особливо антибіотиків, суттєво обмежені внаслідок швидкого звикання та втрати чутливості до них пародонтопатогенної мікрофлори. В останні роки зазначається зростання прогресивних форм хронічного пародонтиту, резистентних до стандартної антибактеріальної терапії з перебігом без помітних ознак одужання [7, 15].

У великій кількості проведених досліджень переконливо доведена закономірність розвитку пародонтиту на тлі загальносистемних захворювань, як-от атеросклероз, цукровий діабет, гіперліпідемія, патології нирок тощо. У зв'язку з цим назріла критична потреба у безпечних, природних, без побічних ефектів лікарських засобах, які не будуть посилювати й без того пригнічену імунну систему. І перспективним напрямом у комплексному лікуванні патології ротової порожнини є використання пробіотиків (живих пробіотичних бактерій), пребіотиків (речовин, що стимулюють ріст пробіотичної мікрофлори) і синбіотиків (поєднання про- і пребіотиків) [8, 9]. Сьогодні під поняттям «пробіотики»

(ВООЗ, 2002) розуміють «живі мікроорганізми, використання яких у необхідній кількості надає лікувально-профілактичну допомогу організму людини». Міжнародний інститут науки про життя (ILST) в Європі передбачає визначення, згідно з яким пробіотик — «живий мікробний харчовий інгредієнт, який, при попаданні в організм у достатній кількості, є корисним для здоров'я споживача». До складу пробіотиків входять різноманітні штами представників нормальної мікрофлори з високими антагоністичними, ферментативними та імуномодулювальними властивостями, здатними пригнічувати ріст патогенних бактерій.

Виражені протимікробні властивості, пробіотичних штамів дали змогу розглядати можливість застосування препаратів на їх основі як альтернативу антибіотикам, що особливо актуально в епоху стрімкого розповсюдження резистентних форм патогенних мікроорганізмів і зниження ефективності низки протимікробних засобів. Пробіотики у сучасній стоматології повноцінно заповнили нішу препаратів для лікування та профілактики стоматологічної патології, що потребує корекції дисбіотичних порушень, зокрема карієсу, уражень тканин пародонта та захворювань слизової оболонки різного генезу [10, 11]. Основні механізми дії пробіотиків у ротовій порожнині спрямовані на конкуренцію з карієсогенними та пародонтогенними мікроорганізмами, нормалізацію кислотно-лужного балансу ротової порожнини, антимікробну дію речовини відносно патогенної мікрофлори, зниження запальних явищ, підвищення місцевого імунного захисту. Таким чином, пробіотики є аналогами антибіотиків за механізмом дії на вірулентну мікрофлору. Основна їхня відмінність полягає в тому, що, по-перше, вони не викликають сильну реакцію з боку імунокомпетентних клітин, а по-друге, є власною резидентною мікрофлорою організму-господаря. Попередньо проведені мікробіологічні дослідження показали, що запропонована суміш силікагелю та бактерій штаму *B. subtilis* і *B. licheniformis* має виражену протимікробну активність як на тестові штами мікроорганізмів, так і на змішану мікробну флору пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит [12–14]. *B. Subtilis* і *B. Licheniformis* належать до третьої групи пробіотиків — антагоністів, а також спричиняють позитивний вплив на імунну систему: стимулюють синтез імуноглобулінів, активують макрофаги, сприяють посиленню продукції лізоциму та ендогенного інтерферону [11, 14, 15]. Це дало підставу для клінічного використання цієї лікарської композиції в ході комплексних лікувально-профілактичних заходів запальних захворювань тканин пародонту.

Мета дослідження: обґрунтування місцевого застосування лікарської композиції на основі високодисперсного силікагелю та бактерій штаму *Bacillus subtilis* В-7812(АХ20) і *Bacillus licheniformis* ІМВ В-7811(ЕА22) для зниження ризиків розвитку ускладнень під час ортодонтичної корекції у пацієнтів хворих на пародонтит.

Матеріали та методи

Під нашим наглядом знаходились 30 пацієнтів основної групи віком 25–60 років (16 жінок і 14 чоловіків) та 18 пацієнтів (10 жінок і 8 чоловіків) контрольної групи віком 25–60 років із генералізованим пародонтитом 1–2 ступеню тяжкості, яким проводилась ортодонтична корекція за допомогою брекет-систем терміном до 2 міс. перед ортодонтичною реабілітацією. Лікування і спостереження проходило на базі Стоматологічного медичного центру НМУ імені О. О. Богомольця. Обстеження пацієнтів включало клініко-рентгенологічну оцінку стоматологічного статусу. Всі пацієнти, які користувалися незнімною апаратурою на передортодонтичному етапі лікування, були ознайомлені з основними навичками гігієни порожнини рота. Окрім цього, всім пацієнтам основної та контрольної груп була проведена професійна гігієна порожнини рота з використанням ультразвукового апаратного комплексу. Пародонтологічний статус та оцінку стану гігієни порожнини рота визначали за

допомогою індексів: ІІ (Ind. Russel) пародонтального індексу; ІІ (Ind. Silness-Loe) гінгівального індексу; ІГС (Ind. Greene a. Vermillion) індексу гігієнічного стану. Вказанні індекси розраховувались до, через два тижні, через 1 міс. протягом ортодонтичного лікування та 2 міс. — після закінчення ортодонтичної корекції. Поточний огляд і корекція здійснювались один раз на тиждень. Усім хворим основної групи ортодонтична корекція для профілактики запальних ускладнень поєднувалась із місцевою медикаментозною терапією у вигляді самостійних полоскань, запропонованою лікарською композицією високодисперсного силікагелю та бактерій штаму *Bacillus subtilis* В-7812(АХ20) та *Bacillus licheniformis* ІМВ В-7811(ЕА22) (0,02 кг силікагелю та по $2,5 \times 10^9$ КУО живих мікробних клітин *B. Subtilis* та *B. Licheniformis* у рівних частинах). Суміш пацієнти розводили кип'яченою водою у пропорції 1 до 10 і полоскали порожнину рота не менше 5 хвилин 1 раз на день (зранку після сніданку і чистки зубів або ввечері перед сном) протягом місяця.

Результати дослідження

При аналізі стану пародонту через два тижні після використання лікарської суміші силікагелю та бактерій *B. subtilis* В-7812(АХ20) і *B. licheniformis* ІМВ В-7811(ЕА22) у 24 хворих основної групи спостерігалось виражене зменшення проявів запа-

Таблиця 1

Динаміка клінічних індексів стану пародонта в основній групі (n = 24)

Показники	Значення показників M±m					p
	До лікування	Від початку лікування				
		через 2 тижні	через 1 міс.	через 6 тижнів	через 2 міс.	
ІІ (Ind. Russel)	5,63 ± 0,34	3,68 ± 0,33	2,87 ± 0,34	2,79 ± 0,34	3,06 ± 0,35	< 0,01
ІІ (Ind. Silness-Loe)	2,25 ± 0,01	1,19 ± 0,1	1,04 ± 0,1	0,87 ± 0,1	0,88 ± 0,09	< 0,01
ІГС (Ind. Greene a. Vermillion) С	2,98 ± 0,16	1,3 ± 0,14	1,09 ± 0,16	0,97 ± 0,15	0,98 ± 0,15	< 0,001

Таблиця 2

Динаміка клінічних індексів стану пародонта в контрольній групі (n = 18)

Показники	Значення показників M±m					p
	До лікування	Від початку лікування				
		через 2 тижні	через 1 міс.	через 6 тижнів	через 2 міс.	
ІІ (Ind. Russel)	5,57 ± 0,25	4,63 ± 0,25	4,68 ± 0,26	4,69 ± 0,26	4,55 ± 0,25	< 0,01
ІІ (Ind. Silness-Loe)	1,961 ± 0,1	1,099 ± 0,2	1,101 ± 0,1	1,204 ± 0,12	1,237 ± 0,1	< 0,01
ІГС (Ind. Greene a. Vermillion) С	3,02 ± 0,13	1,87 ± 0,14	1,91 ± 0,13	1,67 ± 0,13	1,39 ± 0,12	< 0,01

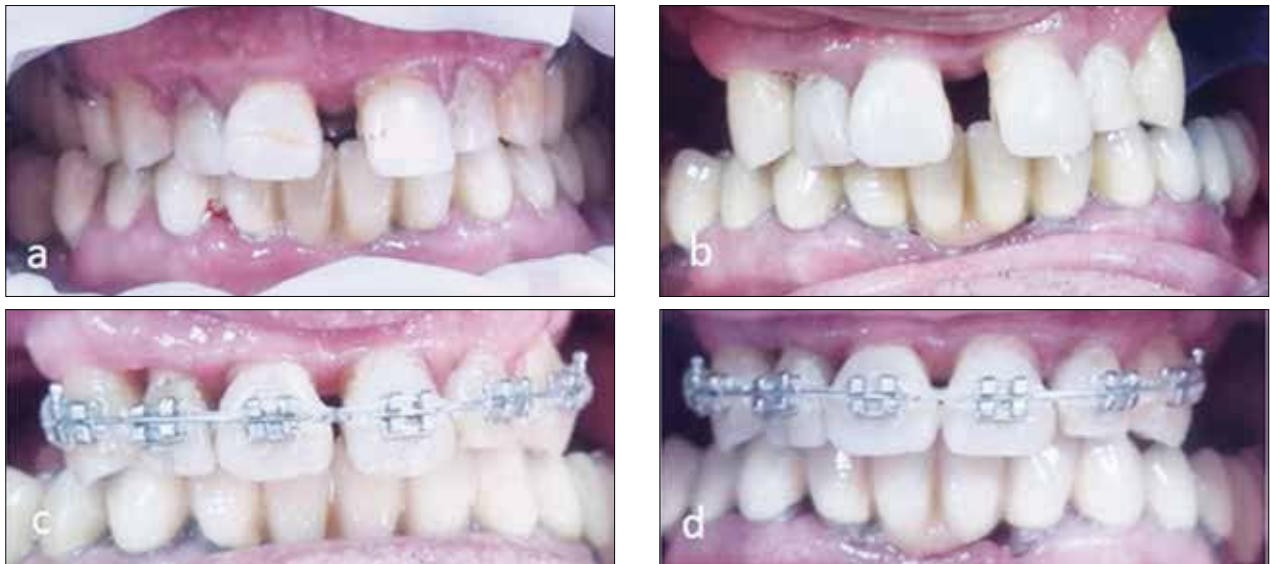


Рис. 1. Пацієнт К. (59 р.) основної групи. Д. з.: хронічний пародонтит (II ст.), ускладнений втратою зубів.
a, b – до лікування; *c, d* – через місяць ортодонтичної корекції.



Рис. 2. Пацієнт К. (59 р.) основної групи. Д. з.: хронічний пародонтит (II ст.), ускладнений втратою зубів.
a – через два місяці ортодонтичної корекції; *b-d* – ортопедична реабілітація.

лення пародонта та покращення гігієнічного стану пацієнтів основної групи незважаючи на наявність незнімної ортодонтичної апаратури в порожнині рота (табл. 1, рис. 1, 2). Так, ПІ (Ind. Russel) пацієнтів основної групи через два тижні знизився на 34,63 %, для контрольної групи зниження ПІ становило 16,9 %. ГІ (Ind. Silness-Loe) через два тижні знизився в основній групі на 47 %, в контрольній – на 43%. ІГС (Ind. Greene a.Vermillion) через два тижні знизився в основній групі на 57 % і на 38 % в контрольній відповідно. Наші спостереження показали, що через 1 міс. в основній групі ці показники продовжували інтенсивно знижуватися. Так, значно знизився ПІ, в середньому на 49,2 % від початкового рівня, ГІ знизився на 48,4 %, ІГС – на 63,4 %. Позитивний ефект спостерігався через

2 міс. ортодонтичного лікування (і 1 міс. після використання запропонованого засобу): ПІ (Ind. Russel) знизився в 1,85 раза, ГІ (Ind. Silness-Loe) вірогідно знизився у 2,6 раза, ІГС (Ind. Greene a.Vermillion) – у 3 рази. Для порівняння, у контрольній групі ПІ знизився в 1,2 раза, ГІ – у 1,6 раза і ІГС – у 2,1 раза щодо початкового стану (табл. 2).

Висновки

Результати отриманих нами досліджень підкреслюють актуальність необхідності міждисциплінарних розробок протоколів ведення пацієнтів з аномаліями прикусу, ускладненими запальними захворюваннями пародонту. Проведені дослідження показали, що запропонована лікарська компо-

зиція силікагелю та бактерій штамів *B. subtilis* В-7812(АХ20) і *B. licheniformis* ІМВ В-7811(ЕА22) має виражену терапевтичну дію на тканини пародонту та значно покращує місцевий гігієнічний статус пацієнтів із хронічним пародонтитом, яким

проводиться ортодонтична корекція незнімною апаратурою, тому може бути рекомендована для використання з метою зниження ризиків розвитку запальних ускладнень під час комплексного лікування таких пацієнтів.

ПОСИЛАННЯ

1. Nazir M. A. (2017). Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International journal of health sciences*. 2017;11(2): 72–80. PMID: [28539867](#). PMCID: [PMC5426403](#).
2. Symonenko R. (2023). Modern methods of diagnosing periodontal tissue diseases in the concept of a systemic approach to treatment. (Literature review. Part 1). *Actual Dentistry*. 2023; 6: 14–21. DOI: <https://doi.org/10.33295/1992-576x-2023-6-14>.
3. Ramalingam K., Peeran S. W. (2021). Chapter 27. Refractory Periodontitis / Recurrent Periodontitis. *Essentials of Periodontics & Oral Implantology*. Chennai, Tamil Nadu, India, 2021. P. 1–5.
4. Chung M.H. (2009). Inconclusive evidence of the effects of orthodontic therapy on periodontal health. *J. Am. Dent. Assoc.* 2009;140(5): 575–576. DOI: <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2009.0228>.
5. P.I. Ngom, H.M. Benoist, F. Thiam, F. Diagne, P.D. Diallo (2007). Influence of orthodontic anomalies on periodontal condition *Odontostomatol Trop.* 2007;30(118): 9–16. In French. PMID: [17933356](#).
6. Sorel O., Glez D., Hourdin S. (2010). Contribution of orthodontics in treatment planning patients with reduced periodontium *Orthod. Fr.* 2010;81(1): 27–32. PMID: [20359446](#). DOI: <https://doi.org/10.1051/orthodfr/210006>
7. Ng E., Tay J. R. H., Boey S. K., Laine M. L., Ivanovski S., Seneviratne C. J. (2023). Antibiotic resistance in the microbiota of periodontitis patients: an update of current findings. *Critical Reviews in Microbiology*. 2023. 4 May. P. 1–12. PMID: [37140235](#). DOI: <https://doi.org/10.1080/1040841X.2023.2197481>.
8. Meurman JH. (2005). Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci.* 2005 Jun;113(3):188–96. PMID: [15953242](#). DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2005.00191.x>.
9. Pujia AM, Costacurta M, Fortunato L, Merra G, Cascapera S, Calvani M, Gratteri S. (2017). The probiotics in dentistry: a narrative review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017 Mar;21(6):1405–1412. PMID: [28387884](#).
10. Hardan L., Bourgi R., Cuevas-Suárez D.E., Flores-Rodríguez M., Omaña-Covarrubias A., Nicastro M., Lazarescu F., Zarow M., Monteiro P., Jakubowicz N. et al. (2022). The Use of Probiotics as Adjuvant Therapy of Periodontal Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Pharmaceutics*. 2022, 14, 1017. PMID: [35631603](#). PMCID: [PMC9143599](#) DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051017>.
11. Tsubura S., Mizunuma H., Ishikawa S., Oyake I., Okabayashi M., Katoh K., Shibata M., Iizuka T., Toda T. (2009). The effect of Bacillus subtilis mouth rinsing in patients with periodontitis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2009. Vol. 28. P. 1353-1356. PMID: [19649665](#). DOI: <https://doi.org/10.1007/s10096-009-0790-9>.
12. Messori MR, Pereira LJ, Foureaux R, Oliveira LF, Sordi CG, Alves AJ, Napimoga MH, Nagata MJ, Ervolino E, Furlaneto FA. (2016). Favourable effects of Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis on experimental periodontitis in rats. *Arch Oral Biol.* 2016 Jun;66:108–19. Epub 2016 Feb 26. PMID: [26945169](#). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.02.014>.
13. Symonenko R. V., Martynuk I. O. (2022). Microbiological justification of the use of bacillus subtilis bacteria for the treatment of inflammatory periodontal diseases: International scientific conference “Medicine and health care in modern society: topical issues and current aspects” proceedings (November 3–4, 2022. Riga, the Republic of Latvia). Riga, Latvia: Publishing House “Baltija Publishing.” 2022. P. 49–51. DOI: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-260-9-13>.
14. Symonenko R., Martynuk I. (2024). Analysis of the antimicrobial action of bacteria Bacillus licheniformis in relation to the microflora of periodontal pockets. Proceedings of the VIII International Scientific and Practical Conference. Zagreb, Croatia. 2024. P. 87–88.
15. Symonenko R. V., Martyniuk I. O., Etnis L. O., Zhehulovych Z. Ye. (2023). Vykorystannia probiotykyv Bacillus subtilis v kompleksnomu likuvanni zapalnykh zakhvoriuvan parodontu na foni antybiotykozystentnosti. «Visnyk problem biolohii i medytsyny». 2023. Vypusk 2 (169) (dodatok). C. 26. DOI: <https://doi.org/10.29254/2523-4110-2023-2-169/addition-26>

Analysis of the Clinical Efficacy of Probiotics from the Genus *Bacillus* During Orthodontic Correction in Patients with Chronic Periodontitis to Reduce the Risk of Complications

Symonenko R.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Summary. Despite modern medicine's achievements, treating chronic periodontitis remains an extremely difficult task. Orthodontic correction, as a component of complex treatment, can, in some cases, significantly improve patients' periodontal status. However, it also carries the risk of worsening oral hygiene, which can intensify the inflammatory process. Therefore, periodontal maintenance therapy and long-term observation are crucial for treatment success and long-term teeth preservation.

Purpose: To substantiate the local application of an original medicinal composition based on highly dispersed silica gel and bacteria of the *Bacillus subtilis* B-7812 (AX20) and *Bacillus licheniformis* IMB B-7811 (EA22) strains to reduce the risk of complications during orthodontic correction in patients with periodontitis.

Materials and methods. 30 patients of the main group (16 women and 14 men) and 18 patients (10 women and 8 men) of the control group, aged 25 to 60 years with generalized periodontitis of 1–2 degrees of severity, who underwent orthodontic correction using bracket systems for a period of up to 2 months, were under observation. For patients of the main group, orthodontic correction was combined with local drug therapy in the form of independent rinses with the proposed medicinal composition of highly dispersed silica gel and bacteria of the *Bacillus subtilis* B-7812 (AX20) and *Bacillus licheniformis* IMB B-7811 (EA22) strains (0.02 kg of silica gel and 2.5×10^9 CFU of live microbial cells in equal parts) once a day for a month. Clinical efficacy was determined by determining periodontal status, and assessment of oral hygiene was determined using the following indices: PI (Ind. Russel) periodontal index; GI (Ind. Silness-Loe) gingival index; IGS (Ind. Greene a. Vermillion) hygiene index. These indices were calculated before, after two weeks, after 1 month and 2 months during orthodontic treatment.

Results of the study. Our observations showed that after 1 month in the main group, PI significantly decreased, on average, by 49.2% from the initial level, GI decreased by 48.4%, and IHS — by 63.4%. A positive effect was observed after 2 months of orthodontic treatment (and 1 month after using the proposed remedy): PI (Ind. Russel) decreased by 1.85 times, GI (Ind. Silness-Loe) significantly decreased by 2.6 times, IHS (Ind. Greene a. Vermillion) — by 3 times. In the control group for comparison, PI decreased by 1.2 times, GI — by 1.6 times, and IHS — by 2.1 times compared to the initial state.

Conclusions. The conducted studies showed that the proposed medicinal composition of silica gel and bacteria of strains *B. subtilis* B-7812 (AX20) and *B. licheniformis* IMB B-7811 (EA22) has a pronounced therapeutic effect on periodontal tissues and significantly improves the local hygienic status of patients with chronic periodontitis who undergo orthodontic correction with fixed appliances.

Keywords: chronic periodontitis, probiotics of the genus *Bacillus*, orthodontic correction, periodontal status, prevention.

Симоненко Рената Володимирівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри ортопедичної стоматології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4618-6229>.

Стаття: надійшла до редакції 13.11.2024 р. – прийнята до друку 06.12.2024 р.