



دوفصلنامه طب جنوب

پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس

مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج فارس

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

سال دوازدهم، شماره ۱، صفحه ۳۹ - ۳۴ (شهریور ۱۳۸۸)

مقایسه مصرف همزمان فلوکونازول و کلوتریمازول با دوز دنبال شونده آن در درمان

و عود واژینیت کاندیدایی راجعه در شهر بوشهر

طیبه غریبی^{۱*}، مهستی گنجو^۲، فرحناز کمالی^۱، دکتر شهناز احمدی^۳، شهناز پولادی^۴، حکیمه واحدپرست^۴، دکتر نیلوفر معتمد^۵،
طاهره غریبی^۶

^۱ کارشناس ارشد مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

^۲ کارشناس ارشد پرستاری، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

^۳ استادیار بیماری‌های زنان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

^۴ کارشناس ارشد پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

^۵ استادیار پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

^۶ کارشناس مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

چکیده

زمینه: فلوکونازول داروی ضدقارچ سیستمیک مؤثر و کلوتریمازول نیز داروی ضدقارچی موضعی علیه کاندیدا آلبیکانس می‌باشد و روش ترکیب درمانی واژینیت کاندیدایی به‌منظور مقایسه مصرف همزمان فلوکونازول و کلوتریمازول با دوز دنبال شونده آن در درمان واژینیت کاندیدایی راجعه در شهر بوشهر در سال ۸۶-۸۵ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: ۸۰ بیمار متأهل و با سن ۲۰-۴۵ سال و نیز دارای علائم بالینی واژینیت کاندیدایی مزمن انتخاب شدند. بیماران در دو گروه ۴۰ نفری درمان با تک دوز و دوز دنبال شونده فلوکونازول (دو تک دوز ۱۵۰ میلی‌گرمی به فاصله ۷۲ ساعت) و مصرف همزمان کلوتریمازول واژینال ۱ درصد به مدت یک هفته در مقابل درمان تک دوز دنبال شونده فلوکونازول قرار گرفتند. بیماران ۲ هفته و ۶ هفته پس از درمان مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که هر دو روش درمانی در کاهش شکایات و علائم خارش، اریتم، ادم، خراشیدگی و شقاق دو هفته پس از درمان بسیار مؤثر بوده است ($P=۰/۰۰$) و علائم و نشانه‌های واژینیت کاندیدایی در ۶ هفته پس از درمان در گروه آزمون نیز کاهش یافته و اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد داشت ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: ترکیب درمانی فلوکونازول با مصرف دوز دنبال شونده و کلوتریمازول واژینال در کاهش عود علائم واژینیت کاندیدایی در ۶ هفته پس از پیگیری تأثیر بیشتری دارد.

واژگان کلیدی: فلوکونازول، کلوتریمازول، واژینیت، کاندیدا

دریافت مقاله: ۸۷/۹/۵ - پذیرش مقاله: ۸۷/۱۰/۲۶

* بوشهر، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی، دانشکده پرستاری و مامایی، تلفکس: ۲۵۲۸۴۹۸

Email: Taybebehgaribil@yahoo.com

مقدمه

ولو واژینیت در اغلب خانم‌هایی که مراقبت‌های طبی را دریافت می‌کنند، معمول می‌باشد و سالانه بیش از ۱۰ میلیون نفر به این عارضه مبتلا می‌شوند (۱ و ۲). تقریباً سه چهارم خانم‌ها حداقل یک حمله ولو واژینال کاندیدایی را در طول عمر خود تجربه نموده‌اند و ۵ درصد آن‌ها به‌طور مکرر دچار عود ولو واژینیت کاندیدایی شده‌اند (۳). برآورد شده است که از هر ۱۰ نفر خانم حداقل ۷ نفر یکبار در طول عمر خود به عفونت قارچی مبتلا شده‌اند و از هر ۱۰ نفر ۴ نفر دچار عود مکرر گردیده‌اند (۴-۳).

این بیماری اگرچه تهدید کننده حیات نیست، ولی سبب ایجاد عوارض در بیماران و اتلاف وقت و صرف هزینه‌های زیاد جهت درمان بیماران می‌شود. واژینیت کاندیدایی به‌خصوص در نوع عود کننده، یک بیماری جسمی-روانی است که سبب ایجاد استرس‌هایی در بیماران می‌گردد.

درمان رایج ولو واژینیت کاندیدایی شامل پمادها و قرص‌های واژینال است که طول دوره درمان طولانی و عوارض دارویی آن‌ها باعث می‌شود بیمار به محض کاهش علائم و نشانه‌ها درمان را به‌طور ناقص رها کند. مسترن و همکاران نشان داده‌اند که ۴ درصد بیماران داروهای تجویز شده را مصرف نکرده و ۵ درصد بیماران درمان را به صورت ناقص رها کرده‌اند (۵-۷).

تحقیقات متعددی در مورد مقایسه روش‌های مختلف واژینیت کاندیدایی صورت گرفته است که داروی انتخابی جهت درمان فلوکونازول و کلوتریمازول است. فلوکونازول داروی ضدقارچی است که از سنتز ارگوسترول قارچ ممانعت می‌کند که به‌صورت تک دوز خوراکی تجویز می‌شود. کلوتریمازول آزول ضدقارچی بوده که جهت درمان موضعی مورد استفاده

قرار می‌گیرد (۷). طی تحقیقی در آمریکا پژوهشگران معتقد شدند که درمان پیشگیرانه با فلوکانازول ۱۵۰ میلی‌گرمی باعث غلظت درمانی دارو در پلاسمای خون و ترشحات واژینال به ترتیب ۱۶۸ ساعت و ۷۲ ساعت می‌گردد و در بهبود علائم ولو واژینیت کاندیدایی مؤثر بوده و نیز باعث ارتقاء کیفیت زندگی در آنها شده است (۸ و ۹).

در مطالعه مندلینگ (Mendling) که در آلمان انجام شده است فلوکونازول به صورت تک دوز ۱۵۰ میلی-گرمی و با کرم کلوتریمازول واژینال ۱ درصد به مدت ۷ روز، مقایسه شدند که بهبود علائم بین دو گروه تفاوتی نداشت (۷ و ۸).

از آنجایی که در درمان ولو واژینیت کاندیدایی مصرف کامل دارو حین دوره درمانی حائز اهمیت می‌باشد (۵ و ۶) و با توجه به عدم تمایل اکثر بیماران به ادامه طولانی مدت روش درمانی و به دنبال آن عود مجدد بیماری، این مطالعه به منظور مقایسه اثر درمانی مصرف همزمان فلوکونازول و کلوتریمازول با دوز دنبال شونده آن انجام شد در مطالعه قبل تأثیر تک دوز فلوکونازول با دوز دنبال شونده آن در درمان و عود واژینیت کاندیدایی بررسی شد (۴) و پژوهش حاضر ادامه‌ای بر مطالعه قبل می‌باشد.

مواد و روش کار

این تحقیق یک کارآزمایی بالینی است که از مهرماه تا بهمن ماه ۱۳۸۴ در شهر بوشهر انجام شد. ابتدا خانم‌هایی که با شکایت واژینیت کاندیدایی عود شونده به کلینیک تخصصی ابوالفضل (ع) بوشهر مراجعه می‌کردند، انتخاب می‌شدند. افراد دارای مشخصات واژینیت قارچی از جمله خارش، سوزش،

ترشحات غلیظ پنیری شکل، قرمزی ولو/واژن و اسهال
آزمایشگاهی مرطوب بودند.

در تحقیق قبلی که توسط پژوهشگر انجام شده است (۴)،
تأثیر تک دوز فلوکونازول با دوز دنبال شونده آن در
درمان و عود واژینیت کاندیدایی مورد بررسی قرار
گرفت. در این تحقیق نیز که در ادامه تحقیق قبل
می‌باشد، نمونه ترشحات واژن توسط سواپ استریل از
دیواره جانبی گرفته و کشت از ترشحات در محیط
سابورودکستروز آگار صورت می‌گرفت.

در ابتدا تاریخچه بیماری، وضعیت سلامتی و شکایات
بیمار ثبت می‌گردید و افراد حامله، دیابتی، مصرف‌کنندگان
آنتی‌بیوتیک از دو هفته قبل، خانم‌هایی که در دوره
شیردهی هستند، مصرف‌کنندگان داروهای ضد قارچی
خوراکی یا وریدی از ۴ هفته قبل، مصرف‌کنندگان
کنتراسپتیو خوراکی از مطالعه خارج می‌گردیدند و سپس
معاینه دستگاه تناسلی و نمره بندی واژینیت نیز انجام
می‌شد چنانچه در پژوهش قبل ذکر گردیده است، نحوه
نمره‌بندی براساس علائم، نشانه‌های خارش، خراشیدگی،
ادم، اریتم و شقاق بود که شدت آن‌ها به‌صورت خفیف،
متوسط، شدید با نمرات ۱ تا ۳ ارزیابی می‌شد.

ترشحات از نظر مقدار و مشخصات کنترل می‌گردید،
نمونه ترشحات از قسمت جانبی دیواره واژن توسط
سواپ کتانی استریل مرطوب شده با سرم فیزیولوژی
گرفته و جهت انجام کشت مجدداً به لوله استریل
حاوی ۰/۵ سی‌سی نرمال سالین منتقل می‌شد.

بعد از تشخیص واژینیت کاندیدایی افراد از نظر سن،
سطح فرهنگی، زمان آخرین زایمان، رفتارهای بهداشتی
همگون شده و به صورت تصادفی در دو گروه درمانی
قرار گرفتند. سپس در گروه آزمون (۴۰ نفر) فلوکونازول
به‌صورت تک دوز ۱۵۰ میلی‌گرم و مصرف مجدد تک
دوز فلوکونازول ۱۵۰ میلی‌گرمی (دوز دنبال شونده) در

۷۲ ساعت بعد و مصرف همزمان کلوتریمازول واژینال ۱
درصد نیز هر شب به‌مدت یک‌هفته تجویز می‌شد. گروه
شاهد که مصرف تک دوز فلوکونازول ۱۵۰ میلی‌گرمی و
دوز دنبال شونده ۱۵۰ میلی‌گرمی در ۷۲ ساعت بعد
دریافت می‌کردند، از پژوهش قبل اخذ شده و با گروه
آزمون مقایسه شدند. به کلیه بیماران توصیه شد قبل از
مصرف دارو آزمایش خون انجام دهند.

درمان به‌صورت رفع علائم و نشانه‌ها تعریف گردید.
پیگیری اولیه دو هفته پس از درمان صورت می‌گرفت.
مجدداً معاینات و بررسی ترشح و نمونه‌گیری از
ترشحات به روش توضیح داده شده، انجام می‌شد و
مجدداً آزمایش خون انجام گرفت. پیگیری دوم ۶ هفته
پس از درمان انجام گرفت و مجدداً طبق روش توضیح
داده شده، بررسی شدند.

جهت تجزیه و تحلیل آماری، نتایج از آزمون‌های
آماره تی تست، من ویتنی یو (Man Whitney-U) و
مجذور کای استفاده گردید در همه آزمون‌ها سطح
معنی‌دار اختلافها $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

دو گروه از نظر سن (میانگین سنی ۲۹/۹۲ در گروه
آزمون و ۳۰/۹۵ در گروه شاهد)، زمان آخرین زایمان
(میانگین آخرین زایمان ۵/۲۰ سال قبل در گروه آزمون
و در گروه شاهد ۵/۴ سال قبل)، میزان تحصیلات و
سطح بهداشت عمومی مورد بررسی قرار گرفتند و از
نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها به‌دست نیامد.
از لحاظ علائم و نشانه‌ها (خارش، اریتم، ادم،
خراشیدگی، و شقاق) بین دو گروه، در دو هفته بعد از
درمان تفاوتی مشاهده نگردید؛ ولی شدت علائم و
نشانه‌ها در ۶ هفته پس از درمان بین دو گروه آزمون و
شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۱).

جدول ۱: شدت علائم و نشانه‌ها پس از درمان بین دو گروه آزمون و شاهد

علائم و نشانه‌ها	زمان بررسی	*آزمون n = ۴۰	*شاهد n = ۴۰	P.Value
خارش	بدو ورود	۳/۰ (۰/۱۹)	۲/۹ (۰/۱۸)	NS
	هفته دوم	۰/۹ (۰/۱۳)	۰/۸ (۰/۱۴)	NS
	هفته ششم	۰/۹ (۰/۱۵)	۱/۱ (۰/۱۹)	P<۰/۰۵
اریتم	بدو ورود	۲/۴ (۰/۱۴)	۲/۳ (۰/۱۲)	NS
	هفته دوم	۰/۸ (۰/۱۲)	۱/۰ (۰/۱۳)	NS
	هفته ششم	۰/۸ (۰/۱۳)	۱/۱ (۰/۱۴)	P<۰/۰۵
ادم	بدو ورود	۱/۲ (۰/۱۹)	۱/۳ (۰/۱۳)	NS
	هفته دوم	۰/۱ (۰/۱۸)	۰/۲ (۰/۱۱)	NS
	هفته ششم	۰/۲ (۰/۱۴)	۰/۳ (۰/۱۴)	P<۰/۰۵
خراشیدگی	بدو ورود	۱/۴ (۰/۱۵)	۱/۳ (۰/۱۱)	NS
	هفته دوم	۰/۳ (۰/۱۴)	۰/۳ (۰/۱۵)	NS
	هفته ششم	۰/۲ (۰/۱۲)	۰/۳ (۰/۲۱)	P<۰/۰۵
شقاق	بدو ورود	۰/۵ (۰/۱۴)	۰/۶ (۰/۱۲)	NS
	هفته دوم	۰/۱ (۰/۱۳)	۰/۲ (۰/۱۶)	NS
	هفته ششم	۰/۱ (۰/۱۴)	۰/۳ (۰/۲۶)	P<۰/۰۵

*میانگین (خطای معیار)

شونده فلوکونازول بر روی پاراکلینیک تأثیر بیشتری دارد، ولی بر روی علائم و نشانه‌ها اثر آن همانند تک دوز بوده است. بنابراین هر چند تک دوز فلوکونازول با دوز دنبال شونده آن در درمان علائم واژینیت کاندیدایی از تأثیر یکسانی برخوردارند، ولی روش درمانی دنبال شونده فلوکونازول در کاهش عود واژینیت کاندیدایی در ۶ هفته پس از پیگیری از تأثیر بیشتری برخوردار بوده است (۴).

در پژوهش حاضر نشان داده شد که درمان واژینیت کاندیدایی راجعه با مصرف همزمان دوز دنبال شونده فلوکونازول و کلوتریمازول مؤثر بوده و باعث کاهش علائم و نشانه‌های بالینی و پیشگیری از عود می‌گردد. ترکیب درمانی (مصرف همزمان کلوتریمازول واژینال و فلوکونازول ۱۵۰ میلی‌گرمی با دوز دنبال شونده آن) علاوه

میانگین و جمع امتیازات کسب شده نمره واژینیت در هفته دوم در گروه آزمون ۱۵۴۸ و در گروه شاهد ۱۵۵۹/۵ (بنا به آزمون من ویتنی یو) بود که تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. به علت عدم وجود عوارض جانبی در دو گروه بررسی عوارض احتمالی انجام نشد.

بحث

تحقیق قبل که مبنی بر مقایسه تأثیر تک دوز فلوکونازول با دوز دنبال شونده آن در درمان و عود واژینیت کاندیدایی راجعه انجام شد، نشان داد که درمان واژینیت کاندیدایی راجعه با فلوکونازول تک دوز مؤثر بوده است و در کاهش علائم و نشانه‌های بالینی و پیشگیری از عود تأثیر داشته است. دوز دنبال

در خانم‌هایی که علائم مزمن واژینال دارند انجام کشت قارچی مفید است؛ زیرا در تشخیص ولو واژینیت کاندیدیایی تعیین گونه‌های عفونت کاندیدا مؤثر می‌باشد (۱۲).

در تحقیق حاضر اثر درمانی مصرف همزمان کرم کلوتریمازول و واژینال و فلوکونازول ۱۵۰ میلی‌گرمی با دوز دنبال شونده آن بر روی ترشحات واژینال در گروه آزمون بالاتر از گروه شاهد بود و بررسی ترشحات واژن از طریق مشاهده میکروسکوپی روش مناسبی جهت تشخیص و بررسی تأثیر درمان می‌باشد. بنابراین پیگیری ۶۰ روزه از ترشحات واژینال توصیه می‌شود.

عارضه جانبی در بیماران مشاهده نشد. همچنین طی آزمایشات خون در بدو ورود و در هفته دوم تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. مندلینگ در آلمان می‌نویسد؛ رژیم درمانی دوز دنبال شونده ترکیب درمانی فلوکونازول و کلوتریمازول روش ایمن بوده و بخوبی تحمل شدند و هیچ بیماری به علت عوارض جانبی و عواقب مضر دارو را قطع نکرد (۷ و ۱۳). همچنین نوکولو (Nwokolo) در ایرلند و دیگر محققین می‌نویسند، درمان با فلوکونازول ۱۵۰ میلی‌گرمی به صورت تک دوز خیلی مؤثر است؛ بنابراین عوارض جانبی خفیف تا متوسط مشاهده شده است این عوارض شامل سردرد، راش و تهوع می‌باشند (۱۴ و ۱۵).

همان‌طور که در پژوهش قبل مطرح شد، در مورد علائم و نشانه‌ها به نظر می‌رسد عامل اولیه خارش بوده که به دنبال آن منجر به عوارض خراشیدگی، اریتم، ادم و شقاق می‌شود و جهت رفع خارش پماد هیدروکورتیزون پیشنهاد شده بود؛ ولی در این تحقیق با رفع خارش در گروه آزمون تا هفته ششم، به نظر می‌رسد بیانگر تأثیر زیاد روش ترکیب درمانی و عدم

بر تأثیر روی پاراکلینیک علائم و نشانه‌ها را نیز بهبود داد. فراهباس (Ferahbas) در مقایسه سه رژیم درمانی کاندیدیاز واژینال، در ۱۴۴ بیمار که دارای علائم و نشانه‌های بالینی و قارچی کاندیاز واژینال بودند، به‌طور تصادفی گروه اول با داروی تربی‌نافین (Terbinafine)، گروه دوم با ایتراکونازول و گروه سوم با فلوکونازول ۱۵۰ میلی‌گرمی به صورت تک دوز تحت درمان قرار گرفتند و سپس طی ارزیابی در ۴ هفته بعد از درمان نتیجه گرفتند که درمان کاندیدیاز واژینال با ایتراکونازول خوراکی یا فلوکونازول خوراکی مؤثر خواهد بود و می‌بایست روش انتخابی در نظر قرار گیرد (۱۱).

مندلینگ در تحقیق انجام شده اظهار می‌کند ترکیب درمانی با کرم کلوتریمازول و واژینال ۱۰ درصد و فلوکونازول ۱۵۰ میلی‌گرمی خوراکی بر بهبود بالینی و ریشه کنی قارچ کاندیدا آلبیکانس مؤثر می‌باشد و تنها ۵۰ درصد از این ۸۸ بیمار، ۸ هفته پس از درمان عود علائم داشتند (۷).

پرازرتازوات (Prasertsawat)، جهت درمان کاندیدیاز ولو و واژینال مصرف تک دوز فلوکونازول ۱۵۰ میلی‌گرمی را پیشنهاد می‌کند و علی‌رغم این‌که از نظر اقتصادی هزینه مصرف آن بیشتر از کلوتریمازول و واژینال (شیاف و واژینال ۲ بار در روز به مدت ۳ روز) می‌باشد، به علت میزان بهبود قارچی سریع ظرف یک-هفته و ادامه بهبود تا ۴ هفته پس از درمان، همچنین وجود حداقل عوارض جانبی در مصرف کنندگان تک دوز فلوکونازول خوراکی، کاربرد آن ارجحیت دارد (۱۲).

به‌طور کلی تقریباً ۱۵ تا ۲۰ درصد از زنان بدون علامت با قارچ کلونیزه شده‌اند. بنابراین کشت قارچ، به‌طور معمول می‌تواند گونه‌های قارچ را تعیین نماید.

نیاز به پماد هیدروکوتیزون می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات و همکاری کلیه پرسنل محترم دانشگاه علوم پزشکی بوشهر بخصوص معاونت پژوهشی آقای دکتر امینی، خانم دکتر شهناز احمدی، اعضاء کمیته پژوهشی، مسئول آزمایشگاه

تحقیقات علوم پزشکی بوشهر، مسئول محترم و کلیه پرسنل کلینیک تخصصی ابوالفضل (ع) تشکر بنمایند. همچنین مراتب سپاس خود را از گروه مامایی دانشکده پرستاری و مامایی بوشهر اعلام می‌دارند و از همکاری خانم عفت زاهدی‌راد دانشجوی کارشناسی پیوسته مامایی کمال تشکر را دارند.

References:

- Owen MK, Clenney TL. management of vaginitis, *Am Fam Physician J* 2004; 70: 1-10.
- Mardh PA, Wagstrom J, Landgren M, et al. Usage of antifungal drugs for Therapy of genital candida infection 2004; 12: 91-7.
- Palacio AD, Sanz F, Alor GS. Comparison of Flutrimazol Site-Release cream with placebo site- release cream. *mycocest J* 2000; 43: 355-65.
۴. کمالی ف، غریبی ط، نعیمی ب. مقایسه تأثیر تک دوز فلوکونازول با دوز دنبال شونده آن در درمان و عود واژینیت کاندیدایی راجعه، مجله طب جنوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر، سال ششم (شماره ۱): ۱۳۸۲، ص ۳۰-۲۵.
- Mazneikova V. Vaginal candidiasis-treatment protocols using miconazole and fluconazole. *Akush ginekol (sofilia)* 2003; 42: 30-4.
۶. خورسندی م، مدرس گیلانی م، خسروی ع. مقایسه درمان ولو واژینیت کاندیدایی با قرص فلوکونازول خوراکی و کلوتریمازول واژینال، مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین شماره ۱۴، ۱۳۷۹، ص ۹-۲۵.
- Mendling W, Krauss C, fladung B. Comparing efficacy and tolerability of typical combination therapy with clotrimazole and single dose fluconazole in vulvovaginal mycoses. *mycoses J* 2004; 47: 136-42.
8. Sobel JD, Fluconazole for treatment of candidiasis: 15 years experience. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004; 2: 357-66.
9. Sobel JD. Treatment of complicated candida comparison of single and sequential dose of fluconazole. *Am J obstet Gynecol* 2001; 185: 363-9.
10. Sobel JD. Management of recurrent vulvovaginitis candidiasis. *Curr infect Dis Rep* 2006; 8: 481-6.
11. Ferahbas A, Koc AN, Uksal U, et al. Terbinafine versus itraconazole and fluconazole in the treatment of vulvovaginal candidiasis 2006; 13: 332-6.
12. Prasertsawat P, Bourlet A. Comparative study of fluconazole and clotrimazole for the treatment of vulvovaginal candidiasis sex transm Dis 1995; 2: 228-30.
13. Nyirjesy P. Chronic Vulvovaginal Candidiasis *Am Fam Physician* 2001; 63: 697-702.
14. Nwokolo NC, Boag FC. Chronic Candidiasis. *Drug Aging* 2000; 16: 335-9.
15. Ringdahl EN. Treatment or recurrent Vulvovaginal candidiasis. *Am Fam Physician* 2000; 61: 3306-12.