

6. RH-profylax

Införandet av RhD profylax har haft stor betydelse för modern perinatalologi. Hög perinatal mortalitet och livslånga handikapp till följd av svår RhD immunisering var ingen ovanlighet innan profylaxens införande. I Sverige infördes RhD profylax 1969 till RhD negativa mödrar som fött ett RhD positivt barn.

RhD profylax består av humana poolade polyklonala anti-D IgG-antikroppar från plasmagivare. Givarna är immuniserade mot RhD antigenet och har höga nivåer anti-D-antikroppar. Tillgången är begränsad och det är ett plasmaderivat läkemedel varför RhD profylax endast ska ges på tydlig indikation till RhD negativa kvinnor som har risk för immunisering. Den exakta verkningsmekanismen för hur givet anti-D IgG kan motverka aktivering av immunförsvaret och sensibilisering mot RhD antigenet är inte känd, men det är sedan länge klarlagt att administration av passiva antikroppar mot ett antigen kan förhindra ett antikroppssvar mot samma antigen (AMIS – antibody-mediated immune suppression). Det har gjorts stora forskningsinsatser på att framställa monoklonala och rekombinanta preparat, men utan samma effekt. Plasma från givare testas och ska vara negativ för hepatit C-virus, HIV, hepatit B-virus och parvovirus B19. Plasman är dessutom patogeninaktiverad, vilket innebär att även eventuella andra virus och bakterier avdödas. Det finns ingen evidens för att prioner skulle kunna överföras med RhD profylax.

RhD profylax ges i förebyggande syfte när risk finns för att en fetomaternal blödning (FMB) kan ha uppstått. Profylaxen ska ges så snart som möjligt (inom 72 timmar) och har endast effekt hos icke immuniserade indivi-

der. Redan RhD immuniserade kvinnor har inte nytta av profylax. Om RhD profylax av misstag ges till en redan RhD immuniserad kvinna, så har detta inga skadliga effekter, varken för mor eller foster. Har man glömt att ge RhD profylax inom 72 timmar när indikation funnits, så kan den fortfarande ges vid senare tillfälle. Profylaxen har viss skyddseffekt om sprutan ges inom två veckor efter förmodad FMB. Experimentellt har det visats att 50E (10 µg) polyklonalt anti-D räcker för att skydda mot exponering för 1 mL RhD positivt blod eller 0,5 mL fetala RhD positiva erythrocyter (fetal EVF cirka 50 procent) (1). En dos-responsrelation finns och 10 µg anti-D IgG per mL fetalt blod skyddar mot en aktivering av immunsvaret oavsett volym FMB. De registrerade preparaten i Sverige idag innehåller 625E (125 µg) respektive 1500E (300 µg) och ska således skydda mot upp till 10 mL respektive 30 mL fetalt RhD positivt blod. Det betyder att 500E (100 µg) är mer än tillräckligt före graviditetsvecka 20+0 och 1500E (300 µg) från graviditetsvecka 20+0. Undantaget invasiv provtagning, där det finns en teoretisk risk för förlängd FMB. I första trimestern uppskattas den blodvolym som överförs från fostret till den gravida kvinnan vara betydligt lägre (v.g. se nedan) och 250E (50 µg) RhD profylax är sannolikt tillräckligt i första trimestern. För närvarande finns dock inte dessa lägre doser att tillgå som förfyllda sprutor i Sverige.

Administrerad RhD profylax ska dokumenteras i läkemedelsjournal, oavsett när under graviditeten eller efter förlossningen den är given. Batchnummer på produkten ska anges då det är en human plasmaprodukt som ska vara spårbar.

Det är viktigt att tänka på att en RhD negativ gravid kvinna kan vara immuniserad mot ett annat erytrocytantigen än RhD. Man får då inte glömma att den kvinnan ska erhålla RhD profylax på sedvanliga indikationer.

RhD PROFYLAX I FÖRSTA TRIMESTERN

En RhD negativ kvinna riskerar att immuniseras om hon exponeras för RhD antigen från ett RhD positivt foster genom en fetomater-nell blödning. RhD antigenet har påvisats på embryonala erytrocyter redan cirka 38 dagar efter konceptionen, det vill säga från ungefär sjätte graviditetsveckan (2). RhD proteinet är mycket immunogent och det är känt att även små volymer RhD positivt blod kan orsaka en immunisering. I vissa experiment har man kunnat påvisa immunisering hos frivilliga RhD negativa individer som exponerats för 0,1 mL RhD positivt blod (3).

Det är okänt hur stor blodvolymen exakt är hos ett foster före graviditetsvecka 12, men den har beräknats vara ca 0,33 mL i graviditetsvecka 8, och mindre än 0,25 mL i graviditetsvecka 6 (4). Incidensen av FMB i första trimestern anges vara cirka 54 procent, och har kunnat påvisas så tidigt som i graviditetsvecka 6. Den till kvinnan då överförda blodvolymen är således mycket liten. Även om det skulle vara teoretiskt möjligt att en mycket tidig graviditet skulle kunna orsaka en immunisering hos en RhD negativ kvinna, är det fortfarande okänt hur väl en tidig FMB korrelerar till risken för immunisering, liksom vilka mekanismer i övrigt som kan påverka immuniseringsprocessen.

Med avsaknad av evidensbaserade data skiljer sig rekommendationerna åt mellan olika länder för när RhD profylax i tidig graviditet ska ges. Vanligtvis rekommenderas profylax till RhD negativa kvinnor som genomgår abort efter graviditetsvecka 12, liksom vid instrumentellt avbrytande tidigare i graviditeten. Vid spontan och medicinskt inducerad abort före graviditetsvecka 12 varierar dock rekommendationerna.

Missfall

Man har i vissa studier uppskattat att blodvolymen vid en FMB i samband med en spontan abort före graviditetsvecka 12 understiger 0,1 mL och skulle därmed, med nuvarande kunskap, inte vara tillräckligt för att kunna orsaka en immunisering (5). En spontan abort efter graviditetsvecka 12 skulle dock kunna orsaka en tillräckligt stor FMB för att sensibilisera en RhD negativ kvinna (6). I Cochrane-databasen finns en systematisk översikt av randomiserade kontrollerade studier där man jämför uppkomsten av immunisering hos kvinnor som fått RhD profylax efter missfall med kvinnor som fått placebo eller ingen profylax (7). Syftet med genomgången var att utvärdera om rutinmässig RhD profylax till RhD negativa kvinnor efter missfall skulle kunna minska risken för immunisering i efterföljande graviditet. Slutsatsen i Cochranes översikt är att det inte finns tillräcklig evidens för att rekommendera RhD profylax efter spontan abort, med eller utan kirurgisk utrymning av livmodern, och att fler studier behövs. I en systematisk översikt av National Institute of Clinical Excellence (NICE) sökte man efter evidens för att motivera RhD profylax vid hotande missfall, spontan abort samt ektopisk graviditet (8). Man kunde inte finna någon evidens för att vid dessa tillstånd erbjuda RhD profylax. Däremot ansågs det finnas evidens för att erbjuda RhD profylax till kvinnor som genomgår kirurgisk intervention vid spontan abort. Således saknas konsensus huruvida RhD profylax ska ges i samband med spontan abort.

Inducerad abort

Kirurgisk abort

Vid en kirurgisk abort bryts barriären i det intervillösa rummet, och det finns ökad risk för att fetala erytrocyter frisätts från abortresterna och förs in i maternella blodkärl. Man har i äldre studier påvisat en signifikant FMB (> 0,1 mL) i samband med kirurgisk abort (5). Risken för immunisering efter kirurgisk abort har uppskattats ligga mellan två till fyra procent (9). Man har också sett att risken för

immunisering ökar proportionellt med gestationsåldern, där risken uppskattas vara minimal den första månaden, cirka två procent efter åtta graviditetsveckor och över nio procent efter 12 graviditetsveckor (10). Således rekommenderar de flesta länder att RhD profylax ska ges i samband med en kirurgisk abort.

Medicinsk abort

Man har kunnat påvisa FMB vid medicinsk abort, men det är oklart huruvida blödningen är tillräckligt stor för att en immunisering ska kunna uppstå (11). Sannolikt är risken för FMB vid en medicinsk abort mindre jämfört med en kirurgisk, då man inte orsakar någon kärlskada. I en studie har man jämfört frekvensen RhD immunisering under en tioårsperiod i Kanada och Nederländerna, två länder som har olika policy gällande abortrelaterat användande av RhD profylax (21). Man kom fram till att prevalensen av antikroppar var densamma oavsett om man gav RhD profylax till samtliga kvinnor eller enbart till vissa beroende på graviditetsvecka. Slutsatsen var att det är säkert att avstå från att ge RhD profylax vid spontan abort före graviditetsvecka 10, och inducerad abort före graviditetsvecka 7, men att man sannolikt skulle kunna höja den gränsen ytterligare. Det finns dock inga randomiserade studier som utvärderat risken för immunisering vid en medicinsk abort före graviditetsvecka 12, och således saknas evidens för att rekommendera RhD profylax vid medicinsk abort.

Mola hydatidosa

Det är oklart huruvida en mola skulle kunna orsaka immunisering. Vid en komplett mola sker ingen organogenes, och det är osäkert om trofoblasterna uttrycker RhD antigen. Vid en partiell mola utvecklas dock ett embryo, där erythrocytproduktionen kan hinna påbörjas innan embryot dör. Således finns en teoretisk risk att den gravida kvinnan exponeras för RhD antigen vid en molagraviditet. Om uterus utryms genom exeres ökar risken för signifikant FMB. Evidens för nytta av RhD pro-

fylax vid mola saknas dock (7).

Ektopisk graviditet

Vid en ektopisk graviditet som behandlas konservativt är risken för signifikant FMB sannolikt låg. Vid ektopiska graviditeter med rupturerad tuba har man dock kunnat påvisa signifikant FMB hos 25 procent av fallen, och immunisering har rapporterats (12). Möjligen är risken för immunisering något större vid en ektopisk graviditet än vid en abort vid samma gestationsvecka, då fetala erythrocyter lätt absorberas från peritonealhålan. Vetenskaplig evidens för att ge RhD profylax vid en ektopisk graviditet saknas dock (7).

Sammanfattning RhD profylax i första trimestern

Det finns få eller inga randomiserade studier som stödjer användandet av RhD profylax vid tidig patologisk graviditet eller inducerad abort. Av de studier som gjorts är de flesta bedömda som bristfälliga. Ofta extrapoleras data som gäller andra och tredje trimestern till att även gälla första trimestern. Anledningen till att många länder, trots bristen på evidens, rekommenderar RhD profylax, är att det finns en teoretisk risk för immunisering. Man anser att riskerna med RhD profylax trots allt är låga, och man vill inte ändra fungerande rutiner, och därmed riskera ett ökat antal fall av immunisering, med de konsekvenser det skulle innebära. Argument mot denna rutin är att det finns en begränsad tillgång på hyperimmunerad plasma och att det trots allt finns vissa - om än små - risker förknippade med behandlingen, samt att man inte bevisat att profylax i tidig graviditet är kostnadseffektiv.

Rekommendationer

Det finns för närvarande ingen klar evidens att RhD profylax i första trimestern är till nytta för att undvika immunisering. Man kan därför vara ytterst tveksam till att RhD profylax bör användas i första trimestern över huvud taget. Traditionen att använda RhD profylax

till RhD negativa kvinnor i tidig graviditet är djupt rotad, vilket egentligen är irrationellt. Med hänsyn till traditionen, och möjligtvis viss antydning om nytta från litteraturen kan man kanske motivera att de kvinnor med graviditeter som avslutas med kirurgisk åtgärd såsom instrumentell abort eller operation av extrauterin graviditet tills vidare erbjuds RhD profylax.

FAKTARUTA 1

Rh-profylax i första trimestern

- Det saknas evidens för användning av RhD profylax i första trimestern.
- RhD profylax bör tills vidare erbjudas till kvinnor vars graviditet avslutats med kirurgisk åtgärd (exeres eller operation p.g.a. ektopisk graviditet).
- 50 µg anti-D-immunoglobulin är tillräckligt som profylax i första trimestern.
- RhD profylax ska ges snarast och helst inom 72 timmar.
- Given RhD profylax ska alltid dokumenteras i läkemedelsjournal och batchnummer ska anges för spårbarhet.

RhD PROFYLAX I ANDRA OCH TREDJE TRIMESTERN SAMT POSTPARTUM

Postnatal RhD profylax

Den absolut största risken att bli immuniserad på grund av FMB är i samband med förlösning. Införandet av postnatal RhD profylax minskade risken för immunisering från cirka 14 procent till cirka 1 procent hos RhD negativa kvinnor. Många studier har bekräftat den stora medicinska effekten av postnatal profylax (14). RhD profylaxen ska ges så snart som möjligt efter förlösningen eller inom 72 timmar till RhD negativa kvinnor som fött ett RhD positivt barn eller där barnets blodgrupp

är okänd. Om man missat att ge RhD profylax inom 72 timmar efter förlösning ska profylax ändå ges senare. Vad som är den optimala dosen är inte visat. I vissa länder ges 500E (100 µg), men då rekommenderar man rutinmässig screening för volym FMB efter förlösningen. Det anses inte nödvändigt om 1000-1500 E (200-300 µg) ges då FMB över 20 mL är mycket ovanligt (15).

Risk för FMB som är större än vad som täcks av standarddos RhD profylax finns vid placentakomplikationer (placentaavlossning, manuell lösning, accreta), traumatisk instrumentell förlösning, sectio, flerbörd, kraftigt abdominellt trauma i tredje trimestern samt intrauterin fosterdöd (13). Vid misstanke kan fetalt Hb i maternellt blod kvantifieras och dosen RhD profylax anpassas. Alternativt kan en extra spruta ges om svar på prov för fetalt Hb inte går att få inom kort tid. För kvantifiering av fetalt Hb, v.g. se kapitel 4.

Rutinmässig antenatal RhD profylax i tredje trimestern

Den vanligaste orsaken till RhD immunisering trots given postnatal RhD profylax är sensibilisering på grund av "tyst" FMB under pågående graviditet. Det är vanligast i tredje trimestern, men kan också inträffa tidigare (16). Att en mindre mängd fetala erythrocyter passerar över till moderns cirkulation tillhör sannolikt normal graviditetsfysiologi. Hos vissa kvinnor räcker dock detta för att aktivera immunförsvaret och att anti-D ska börja bildas. Incidensen RhD immunisering under och efter graviditet kan ytterligare reduceras med rutinmässig antenatal RhD profylax. Genom att administrera RhD profylax i början av tredje trimestern (graviditetsvecka 28-30) till RhD negativa gravida som bär på ett RhD positivt foster, eller där fostrets RhD typ är okänd, kan incidensen immunisering sänkas från ca 1 procent till 0,2 – 0,3 procent (17,20). Antenatal RhD profylax givet intramuskulärt har en halveringstid på cirka tre veckor, med en stor individuell variation. En given dos 1500E ger mätbara plasmakoncen-

trationer anti-D IgG i minst tio veckor hos de flesta gravida kvinnor, men därefter har inte alla kvinnor (cirka 25 procent) mätbara koncentrationer (18). Hos vissa kvinnor kan det därmed innebära ett bristande skydd mot immunisering i sen graviditet (gv 40-42), då risken för tyst FMB sannolikt är störst. Överburenhet innebär då en ökad risk för immunisering trots given rutinmässig antenatal RhD profylax i graviditetsvecka 28-30. För att undvika immunisering i fullgången tid kan man överväga att ge en upprepad antenatal dos RhD profylax i graviditetsvecka 39-40, när det är känt att fostret är RHD positivt (19).

Rutinmässig antenatal profylax ska ges även om kvinnan redan har fått RhD profylax under pågående graviditet vid rekommenderade indikationer enligt nedan. Det omvända gäller också, att om en kvinna erhållit rutinmässig antenatal profylax så ska RhD profylax ges som vanligt vid indikation senare i graviditeten, som exempelvis yttre vändning, kraftigt abdominellt trauma, placentakomplikation med blödning.

RhD profylax givet antenatalt orsakar ingen fetal hemolys eller neonatal hyperbilirubine-mi och är ofarligt för mor och barn. Barnet kan dock vara DAT-positivt vid födelsen på grund av kvarvarande RhD profylax som bundit till barnets erythrocyter. Detta i sig utgör ingen indikation för förlängd sjukhusvistelse. Provtagning och behandling för hemolytisk sjukdom ska endast ske på klinisk misstanke vid bedömning av barnläkare. Det måste dock bekräftas att mamman erhållit RhD profylax i tredje trimestern.

Invasiv prenatal provtagning samt intrauterina ingrepp.

Invasiv provtagning (fostervattenprov, moderkaksprov, navelvensprov) medför sannolikt en ökad risk för FMB. Därför rekommenderas RhD profylax med 1500E (300 µg) vid dessa ingrepp. Även vid andra intrauterina ingrepp (t.ex. shuntinläggning, selektivt fetocid, fetoskopi) ska RhD profylax ges.

Placentakomplikationer (ablatio placentae, placenta previa, placenta accreta)

Dessa tillstånd innebär betydande risk för FMB med immunisering som följd och man bör ge 1500E (300 µg) RhD profylax omgående och överväga provtagning för kvantifiering av fetalt Hb och justera profylax utifrån testresultat. En extra spruta RhD profylax kan med fördel ges direkt, i avvaktan på testresultat.

Abdominellt trauma med eller utan synlig vaginal blödning

Samma som ovan gäller vid kraftigt abdominellt trauma, exempelvis trafikolycka. Vid dessa händelser föreligger ökad risk för FMB överstigande 30 mL.

Yttre vändning av foster (även försök till vändning)

RhD profylax 1500E (300 µg) rekommenderas till RhD negativa kvinnor som inte är immuniserade, oberoende om vändningen har lyckats eller inte, då risk för FMB finns.

Antepartal vaginal blödning

Det finns endast svag evidens för att det vid antenatal blödning under andra och tredje trimestern föreligger risk för immunisering. I avsaknad av trauma eller placentakomplikationer kan man avstå från RhD profylax.

Intrauterin fosterdöd

Om RhD negativ mor, ge RhD profylax direkt efter att intrauterin fosterdöd konstaterats (när maternella blodprover är tagna), d.v.s. vänta inte till efter förlossningen. En ökad risk för sensibilisering finns vid fosterdöd oavsett orsak och den risken kan eventuellt minskas om RhD profylax ges så snart som möjligt. Maternellt blodprov ska tas för kvantifiering av eventuell FMB (flödescytometrisk analys av fetalt Hb).

Missad/ej tagen antenatal RhD profylax

Om RhD profylax missats när indikation funnits eller om kvinnan avböjt, så ska detta dokumenteras i journalen. Hon ska följas med sedvanlig antikroppsscreening i mödravården.

FAKTARUTA 2

Stor fetomaternell blödning hos RhD negativ gravid kvinna

Vid klinisk misstanke om stor FMB bör volymen fetalt blod i moderns cirkulation kvantifieras med flödescytometri. Om fraktionen fetala erythrocyter i maternellt blod överskrider 0,5 procent eller 25 mL fetalt blod (maternell blodvolym 5000 mL, normal EVF samt fetal EVF 50 procent) så bör extra RhD profylax ges. Grovt kan uppskattas att en extra dos 1500E RhD profylax bör ges per 0,5 procent fetala erythrocyter enligt följande:

0 - 0,5 procent	1 dos
0,5 - 1 procent	2 doser
1-1,5 procent	3 doser
1,5 - 2 procent	4 doser
2-2,5 procent	5 doser

Upp till och med 5 sprutor kan ges samtidigt och bör då ges under övervakning avseende överkänslighetsreaktion hos kvinnan. Om fler än 5 doser behöver ges ska man avvakta 24 timmar innan man ger resterande doser. Analysmetoder för att kvantifiera volym FMB finns inte tillgängligt med akutsvar på en del sjukhus. I dessa fall får man kliniskt uppskatta blödningsmängden och ge RhD profylax därefter, i väntan på provsvar

FAKTARUTA 3

Rh profylax i andra och tredje trimestern samt postpartum

- 1500E (300 µg) RhD profylax ska ges så snart som möjligt efter förlossning till RhD negativa kvinnor som fött ett RhD positivt barn.
- Vid placentakomplikationer med blödning pre- eller peripartalt, överväg kvantifiering av FMB för optimering av doseringen av RhD profylax.
- Rutinmässig antenatal RhD profylax 1500E (300 µg) i graviditetsvecka 28-30 bör ges till RhD negativa kvinnor som bär ett RhD positivt foster, under förutsättning att kvinnan inte utvecklat anti-D antikroppar.
- Rutinmässig antenatal RhD profylax ska ges även om RhD profylax givits på indikation tidigare under graviditeten.
- RhD profylax 1500E (300 µg) ska därutöver ges under graviditet till RhD negativa kvinnor vid följande händelser: invasiv provtagning, intrauterina ingrepp, yttre vändning, placenta-komplikationer med blödning.
- RhD profylax ska ges vid indikation även om rutinmässig antenatal RhD profylax givits tidigare under graviditeten.
- Efter att intrauterin fosterdöd konstaterats ska RhD profylax ges så snart maternella prover är tagna. Man ska inte vänta med att ge profylaxen till efter förlossningen.
- Given RhD profylax ska alltid dokumenteras i läkemedelsjournal och batchnummer ska anges för spårbarhet.
- Uppgift om given RhD profylax och datum ska alltid anges på remiss när prover skickas till Blodcentralen.

Referenser

1. Prevention of Rh sensitization. Report of a WHO Scientific Group. World Health Organ Tech Rep Ser. 1971;468:3-36.
2. Bergström H, Nilsson LA, Nilsson L, Ryttinger L. Demonstration of Rh-antigens in a 38-day-old fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 1967;99:130-3.
3. Mollison PL, Hughes-Jones NC, Lindsay M, Wessely J. Suppression of primary RH immunization by passively-administered antibody. Experiments in volunteers. *Vox Sang.* 1969;16(4):421-39.
4. Leong M, Duby S, Kinch. Fetal-maternal transfusion following early abortion. *Obstet Gynecol.* 1979; 54:424-6.
5. Jorgensen J. Feto-maternal bleeding. MB thesis. University of Copenhagen, Denmark 1975.
6. Matthews CD, Matthews AE. Transplacental haemorrhage in spontaneous and induced abortion. *Lancet.* 1969 Apr 5;1(7597):694-5.
7. Karanth L, Jaafar SH, Kanagasabai S, Nair NS, Barua A. Anti-D administration after spontaneous miscarriage for preventing Rhesus alloimmunisation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Mar 28;3: CD009617.
8. NICE Clinical Guidelines, No 154. Ectopic pregnancy and Miscarriage: Diagnosis and initial management in early pregnancy of ectopic pregnancy and miscarriage. 2012.
9. Murray S, Barron S.L. Rhesus Isoimmunization after abortion. *Br Medical Journal.* 1971, 3, 90-92.
10. Fiala C, Fux M, Gemzell Danielsson K. Rh-prophylaxis in early abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003;82:892-903.
11. Urquart DR, Templeton A. Reduced risk of isoimmunization in medical abortion. *Lancet.* 1990;340:914.
12. Hartwell EA. Use of Rh immune globulin: ASCP Practice Parameter. American Society of Clinical Pathologists. *Am J Clin Pathol.* 1998; 110:281-92.
13. RCOG Green top Guideline No. 22. The Use of Anti-D Immunoglobulin for Rhesus D Prophylaxis. 2011.
14. Crowther C, Middleton P. Anti-D administration after childbirth for preventing Rhesus alloimmunisation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD000021. Review.
15. Lubusky M, Simetka O, Studnickova M, Prochazka M, Ordeltova M, Vomackova K. Fetomaternal hemorrhage in normal vaginal delivery and in delivery by cesarean section. *Transfusion.* 2012 Sep;52(9):1977-82.
16. Bowman JM, Chown B, Lewis M, Pollock JM. Rh isoimmunization during pregnancy: antenatal prophylaxis. *Can Med Assoc J.* 1978 Mar 18;118(6):623-7.
17. Turner RM, Lloyd-Jones M, Anumba DO, et al. Routine antenatal anti-D prophylaxis in women who are Rh(D) negative: meta-analyses adjusted for differences in study design and quality. *PLoS One.* 2012;7(2):e30711.
18. Tibladi E, Wikman A, Rane A, Jansson Y, Westgren M. Pharmacokinetics of 250 µg anti-D IgG in the third trimester of pregnancy: an observational study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012 May;91(5):587-92.
19. Wikman A, Mörtberg A, Jalksten E et al. Altered strategy of prophylactic anti-D administration in pregnancy to cover term and post-term -a pilot study. *Vox Sang.* 2021;116:1005-1011.