

MYO**Mioglobina (CLIA)****■ Informações do kit**

Número de catálogo	Apresentação das embalagens
105-005661-00	2 ×50 testes
105-005678-00	2 ×100 testes

■ Uso pretendido

O ensaio de Mioglobina da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação quantitativa de mioglobina sérica ou plasmática humana. A mioglobina pode ser usada como marcador biológico de fase precoce para diagnosticar infarto agudo do miocárdio (IAM).

■ Resumo

A mioglobina, com um peso molecular de 17,8 kD, é uma hemoproteína encontrada apenas nas células do músculo esquelético e do músculo cardíaco. Experimentos comprovaram que a mioglobina do esqueleto e a mioglobina do músculo cardíaco não são diferentes na atividade imunológica. A mioglobina transporta oxigênio e serve como um reservatório de oxigênio, desempenhando uma função importante no metabolismo celular aeróbico¹.

A mioglobina é o primeiro marcador biológico no diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (IAM)^{2,3}. Seu pequeno peso molecular permite a difusão rápida no sistema circulatório das células danificadas. A mioglobina aparece na circulação sanguínea cerca de 1 a 3 horas após a ocorrência dos sintomas. A mioglobina se eleva rapidamente a níveis máximos (em 6 a 7 horas) e depois cai a níveis normais (18 a 30 horas). A concentração de mioglobina é alta em quase todos os pacientes que apresentam IAM por 12 horas^{4,5,6}. Assim, a mioglobina é sensível e pode ser usada como um marcador biológico de fase inicial para diagnosticar IAM. No entanto, a mioglobina não é específica para o músculo cardíaco, ela também se eleva em outras condições clínicas, por exemplo, na lesão miocárdica aguda, na insuficiência renal crônica ou aguda, insuficiência cardíaca congestiva severa, choque prolongado, exercícios físicos intensos etc. Além disso, a mioglobina também se eleva no soro em distúrbios neuromusculares (por exemplo, distrofia muscular, miofagismo, polimiosite, etc). Assim, a determinação da mioglobina no soro é adequada para o diagnóstico de IAM apenas para os pacientes que não apresentam complicações das doenças mencionadas acima⁷.

A probabilidade de ocorrência de um IAM é extremamente baixa para os pacientes cuja mioglobina no soro não se eleva em 4 horas após a ocorrência dos sintomas. Devido à eliminação rápida pelos rins, a mioglobina volta ao nível normal em 18 a 30 horas. A

dosagem da mioglobina no soro também pode ser usada para diagnosticar reinfarto. A elevação frequente da mioglobina indica infarto do miocárdio em andamento. Para pacientes cardíacos cirúrgicos, a mioglobina é um índice objetivo para avaliar a lesão cardíaca³.

■ Princípio de ensaio

O ensaio de MYO da série CL é um ensaio imunoenzimático de captura para determinar o nível de MYO.

Na primeira etapa, amostra, tampão de tratamento da amostra, micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo anti-MYO monoclonal (camundongos) e fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-MYO monoclonal (camundongos) serão adicionadas a uma cubeta de reação. Após a incubação, a MYO presente na amostra se liga tanto às micropartículas revestidas de anticorpo anti-MYO quanto à fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-MYO para formar um complexo. As micropartículas serão capturadas magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas serão removidas por lavagem.

Na segunda etapa, a solução do substrato será adicionada à cubeta de reação. Ela será catalisada pela fosfatase alcalina conjugada de anticorpo anti-MYO (camundongos) no imunocomplexo retido nas micropartículas. A reação de quimiluminescência resultante será medida como unidades de luz relativas (RLUs) por um fotomultiplicador integrado no sistema. A quantidade de MYO presente na amostra é proporcional às unidades relativas de luz (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de MYO pode ser determinada por meio de uma curva de calibração.

■ Componentes dos reagentes

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo anti-MYO monoclonal (camundongos). Concentração mínima: 0,3 g/L de sólidos. Tampão MES ^{a)} : 50 mmol/L. Conservantes: ProClin 300 a 0,05% e azida sódica a 0,09%.
Rb	Conjugado anticorpo anti-MYO monoclonal (camundongos)-fosfatase alcalina. Concentração mínima: 0.625 µg/mL. Tampão MES: 50 mmol/L. Conservantes: ProClin 300 a 0,05% e azida sódica a 0,09%.
Rc	Tampão de tratamento da amostra. Tampão TRIS ^{b)} : 50 mmol/L. Conservantes: ProClin 300 a 0,05% e azida sódica a 0,09%.

- a) MES = 2-(N-morfolino) ácido etanesulfônico
b) TRIS = Tris (hidroximetil)-aminometano

■ Armazenamento e estabilidade

O kit de reagente de mioglobina (CLIA) não aberto é estável até a data de expiração indicada quando armazenado a 2–8°C.

O kit de reagente de mioglobina (CLIA) pode ser armazenado no carrossel de reagentes e usado por até 28 dias após a abertura, a 2–8°C.

■ Preparação do reagente

Os reagentes do kit foram montados em uma unidade pronta para uso que não pode ser separada.

■ Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio por Quimioluminescência da série CL da Mindray.

Nº cat.: 105-005912-00: Calibradores de mioglobina, 1×2,0 mL para cada um dos calibradores C0, C1 e C2.

Nº cat.: 105-005941-00: Marcador cardíaco multicontrol (L), 3×2,0 mL.

Nº cat.: 105-005942-00: Marcador cardíaco multicontrol (H), 3×2,0 mL.

Nº cat.: 105-005927-00: Marcador cardíaco multicontrol (L), 6×2,0 mL.

Nº cat.: 105-005928-00: Marcador cardíaco multicontrol (H), 6×2,0 mL.

Nº cat.: 105-004552-00: Tampão de lavagem, 1×10 L.

Nº cat.: 105-009044-00: Solução de substrato, 4×75 mL.

Nº cat.: 105-004274-00: Solução de substrato, 4×115 mL.

Cubeta de reação.

■ Instrumentos aplicáveis

Analizador de Imunoensaio por Quimioluminescência da série CL da Mindray

■ Coleta e preparação da amostra

Tipos de amostra

- Amostras de soro ou plasma humano coletadas em K₂EDTA, K₃EDTA, heparina sódica e heparina de lítio são recomendadas para este ensaio.
- Os tubos de coleta de sangue de fabricantes diferentes podem conter aditivos que podem afetar os resultados do teste em alguns casos. Nem todos os tubos disponíveis no mercado foram testados pela Mindray. Cada laboratório deve determinar a aceitabilidade de diferentes tubos de coleta de sangue e

produtos de separação de soro/plasma.

- Ao processar amostras em tubos primários (sistemas de coleta de amostras), siga as instruções do fabricante do tubo.

Condições da amostra

- Não use:
 - espécimes inativados pelo calor
 - espécimes altamente hemolisados
 - amostras com contaminação microbiana aparente
- Para obter resultados precisos, as amostras de soro e plasma devem estar livres de fibrina, hemólise e outras partículas. Amostras de soro de pacientes que recebem anticoagulante ou terapia trombolítica podem conter fibrina devido à formação incompleta de coágulo.

Preparação para análise

- Siga as recomendações de centrifugação do fabricante do tubo de coleta de sangue. Centrifugue as amostras após a conclusão da formação do coágulo. Certifique-se de que a fibrina residual e a matéria celular tenham sido removidas antes da análise.
- Para obter resultados ideais, verifique se existem bolhas nas amostras e remova-as com uma ponteira de pipeta antes da análise. As amostras devem ser completamente homogeneizadas após descongelamento. Amostras descongeladas devem ser centrifugadas antes do uso.
- Se a amostra estiver coberta com uma camada lipídica após a centrifugação, essa amostra deverá ser transferida para um tubo limpo e centrifugada antes do teste. Não transfira a camada lipídica. Manuseie com cuidado para evitar uma contaminação cruzada.

Armazenamento de espécimes

- As amostras devem ser testadas logo após a coleta. Caso o teste não possa ser concluído dentro de 8 horas, refrigere as amostras entre 2 °C e 8 °C. Se a execução do teste demorar mais de 72 horas para ser realizada, as amostras deverão ser congeladas a -20 °C ou mais baixa. As amostras podem ser armazenadas a -20 °C por até 90 dias.
- Evite mais de cinco ciclos de congelamento.

■ Procedimento do ensaio

Para obter o procedimento de ensaio ideal, os operadores devem ler atentamente o manual do respectivo equipamento, para obter informações suficientes, como instruções de operação, preservação e administração da amostra, precauções de segurança e manutenção. Todos os materiais necessários para o

ensaio também devem ser preparados antes de iniciar as análises. Antes de carregar o kit de reagente de mioglobina (CLIA) no equipamento pela primeira vez, o frasco fechado do reagente deve ser invertido suavemente pelo menos 30 vezes para ressuspensão das micropartículas que se acomodaram durante o transporte ou armazenamento. Inspeção visualmente o frasco para garantir que as micropartículas tenham sido ressuspensas. Se as micropartículas permanecerem fixadas no fundo do frasco, continue invertendo até que elas sejam totalmente ressuspensas. Se as micropartículas não puderem ser ressuspensas, é recomendável não usar esse frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço de Atendimento ao Cliente da Mindray para obter ajuda. Não inverta o frasco do reagente aberto.

Este ensaio requer 5 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do recipiente da amostra. Um volume adicional é necessário a realização de testes adicionais da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e o requisito específico do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

■ Calibração

A mioglobina (CLIA) da série CL foi padronizada em relação a um teste de MYO comercial (CLIA).

As informações específicas da curva do kit de reagente de calibração principal de mioglobina (CLIA) são armazenadas no código de barras bidimensional na caixa do reagente, e deve ser usado em combinação com os calibradores de MYO para a calibração do lote do reagente específico. Antes de iniciar a calibração de cada novo lote de reagente, carregue a curva master do ensaio fazendo a leitura do código de barras bidimensional da caixa do reagente. Ao realizar a calibração, escaneie o código de barras bidimensional da caixa do calibrador e, em seguida, teste os calibradores de MYO em três níveis. Uma curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de MYO. A recalibração é recomendada a cada 4 semanas, quando um novo lote de reagente for usado, ou quando os controles de qualidade estiverem fora do intervalo especificado. Para obter instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operação do sistema.

■ Controle de qualidade

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem em uso, ou após cada calibração. A frequência do controle de qualidade deve ser adaptada aos requisitos individuais de cada laboratório. Os dois níveis de controle de qualidade recomendados para este ensaio são Marcador cardíaco multicontrol (L) e Marcador cardíaco multicontrol (H).

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos

intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora do intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras precisarão ser retestadas. Uma nova calibração pode ser necessária. Examine o sistema do ensaio consultando o manual de operação do sistema. Se os resultados do controle de qualidade ainda estiverem fora do intervalo especificado, entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda.

■ Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra a partir da leitura da curva de calibração master do código de barras, utilizando um ajuste da curva logística de 4 parâmetros (4PLC) com as unidades de luz relativas (RLUs) geradas pelos calibradores de MYO com os valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados na unidade de ng/mL.

■ Valores esperados

Um estudo de uma coorte de 1.150 indivíduos saudáveis do gênero masculino e 1.111 indivíduos saudáveis do gênero feminino determinou o intervalo de referência do ensaio de MYO da série CL.

Categoria	Número de amostras	97,5o Percentil
Masc.	1.150	80 ng/mL
Mulheres	1.111	65 ng/mL

Devido à variação de dados geográficos, raça, gênero e idade, é altamente recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

■ Limitações

O limite superior deste ensaio é de 3.000 ng/mL. Um espécime com concentração de MYO menor que o limite superior pode ser quantitativamente determinado, enquanto um espécime com uma concentração mais alta do que o limite superior será reportado como >3.000 ng/mL.

A concentração de MYO em uma dada amostra, determinada com ensaios de fabricantes diferentes, pode variar devido às diferenças nos métodos do ensaio, na calibração e na especificidade do reagente. Os resultados do ensaio devem ser usados em conjunto com outros dados para a tomada das decisões clínicas, como sintomas, resultados de outros testes e histórico clínico.

Os espécimes de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongos podem conter anticorpo humano anticamundongo (HAMA)⁹. Essas amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou falsamente reduzidos com kits de ensaio que empregam anticorpos monoclonais de ratos^{10,11}. No entanto, nenhuma interferência aparente de HAMA foi observada neste ensaio.

■ Características de desempenho**■ Sensibilidade analítica**

O kit de reagente de mioglobina (CLIA) tem uma sensibilidade analítica de $\leq 1,0$ ng/mL. A sensibilidade analítica é definida como a menor concentração de analito que pode ser diferenciada de uma amostra que não contém o analito. Ela é definida como a concentração de MYO em dois desvios-padrão acima da média de RLU de 20 medições de uma amostra sem analito.

■ Intervalo de medição

1,0 ng/mL a 3.000 ng/mL (definido pelo limite de detecção e o máximo da curva principal). Valores abaixo da sensibilidade analítica serão reportados como $<1,0$ ng/mL. Valores acima do intervalo de medição serão reportados como > 3.000 ng/mL.

■ Especificidade analítica

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicerídeos até 3.000 mg/dL, proteína total até 10 g/dL, fatores reumatóides (RF) até 1.500 UI/mL e anticorpo antinuclear não interferem no ensaio de MYO-MB da série CL. Critério: Recuperação dentro de $\pm 10\%$ (FR: $\pm 15\%$) do valor inicial.

Testes in vitro foram realizados em 12 produtos farmacêuticos comumente usados. Nenhuma interferência foi observada nessas substâncias. Critério: Recuperação dentro de $\pm 10\%$ do valor inicial.

O calibrador de MYO C0 atingiu o pico com hemoglobina. Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada, pois todos os resultados foram $\leq 1\%$. Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Substância	Concentração de substância que pode gerar reatividade cruzada (mg/mL)	Reatividade cruzada	Critérios de aceitação
Hemoglobina	5	0,00%	1%

**Dados representativos. Os resultados podem variar entre laboratórios.*

■ Efeito gancho

Para o ensaio de MYO da série CL, nenhum efeito gancho foi observado em amostras contendo doses elevadas, de até aproximadamente 100.000 ng/mL de MYO.

■ Exatidão

Dois controles de veracidade com valores rastreáveis e definidos foram usados para verificar a exatidão desse ensaio. Os resultados mostraram que os desvios relativos estavam dentro de $\pm 10\%$. Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Valor de MYO medido (ng/mL)	Valor de MYO definido (ng/mL)	Desvio relativo
Nível 1	55,91	57,22	-2,29%
Nível 2	1.128,40	1.214,24	-7,07%

**Dados representativos. Os resultados podem variar entre laboratórios.*

■ Precisão

A precisão foi determinada seguindo o Protocolo EP5-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)¹². Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicata em duas execuções separadas por dia, em um total de 20 dias, usando um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de precisão estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Média de MYO (ng/ml)	CV na série	CV entre séries	CV no dispositivo
1	68,00	1,58%	0,61%	1,77%
2	1.163,87	1,02%	1,09%	1,78%

**Dados representativos. Os resultados podem variar entre laboratórios*

■ Linearidade

Uma amostra com alta concentração de MYO (aproximadamente 3.000 ng/mL) foi misturada com uma amostra com baixa concentração (<1,0 pg/mL) em proporções diferentes, gerando uma série de diluições. O MYO de cada diluição foi determinado com o uso do ensaio de MYO da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada no intervalo de 1,0 ng/mL a 3.000 ng/mL, com um coeficiente de correlação $r \geq 0,9900$. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	MYO esperado (ng/mL)	MYO medido (ng/mL)
1	0,0	0,0
2	447,2	441,3
3	895,3	821,6
4	1.342,9	1.163,4
5	1.788,8	1.527,4
6	2.236,0	1.954,5
7	2.683,1	2.566,5
8	3.130,3	3.130,3

**Dados representativos. Os resultados podem variar entre laboratórios.*

■ Comparação de métodos

O ensaio de MYO da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico disponível no mercado em um estudo de correlação com cerca de 465 amostras de soro. Os dados estatísticos obtidos pelo método de computação Deming estão resumidos na tabela abaixo.

Intervalo de concentração (ng/mL)	Inclinação	Interceptação	Coefficiente de correlação
21,0 – 3.000	0,9605	2,1167	0,9913

■ Avisos e precauções

1. Apenas para diagnóstico in vitro. Apenas para uso do profissional de laboratório.
2. Siga todas as regras ao manusear reagentes de laboratório e adote as precauções de segurança necessárias.
3. A concentração de MYO em uma dada amostra, determinada com fabricantes diferentes, pode variar devido às diferenças nos métodos do ensaio e na especificidade do reagente. Os resultados reportados pelo laboratório ao médico devem incluir a identidade do ensaio de MYO usado. Os valores obtidos com diferentes métodos de ensaio não podem ser usados de forma intercambiável.
4. Não use kits de reagentes com a data de validade expirada.
5. Não use reagentes de lotes diferentes misturados.
6. Sempre mantenha o pacote de reagente na posição vertical para garantir que nenhuma micropartícula seja perdida antes da utilização.
7. Não é recomendável usar o reagente aberto por mais de 28 dias.
8. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida se as instruções descritas no encarte deste reagente não forem seguidas.
9. Todos os resíduos de amostra e reação devem ser considerados potencialmente infecciosos. O manuseio de amostras e dejetos de reação deve ser realizado de acordo com os regulamentos e diretrizes locais.
10. A ficha de dados de segurança do material (FISPQ/MSDS) está disponível mediante solicitação.
11. Confirme a integridade da embalagem antes de usá-lo. Não use os reagentes com embalagens danificadas.
12. Se os reagentes forem abertos involuntariamente antes da utilização, os mesmos deverão ser utilizados dentro do prazo de estabilidade determinado pelo fabricante.
13. Qualquer incidente grave ocorrido em relação ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à

autoridade competente local.

14. Deve haver suspeita de instabilidade ou deterioração se houver sinais visíveis de vazamento, turbidez, precipitados ou crescimento microbiano.
15. Não congele os reagentes. Os resultados não podem ser garantidos quando os reagentes são armazenados em condições inadequadas.
16. Este kit contém componentes classificados de acordo com o Regulamento (CE) N° 1272/2008:



Aviso

H317 Pode causar reação alérgica na pele.

H412 Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

Prevenção:

P261 Evite respirar poeira/fumaça/gás/névoa/vapores/spray.

P272 Vestuário de trabalho contaminado não deve ser retirado do local de trabalho.

P280 Use luvas/roupas/óculos para proteção dos olhos/rosto.

P273 Evite descartar no meio ambiente.

Medidas de Intervenção:

P302 + P352 SE HOUVER CONTATO COM A PELE: Lave com água em abundância.

P333 + P313 Se ocorrer irritação da pele ou erupção cutânea: Procure orientação/cuidados médicos.

P362 + P364 Retire a roupa contaminada e lave-a antes de reutilizar.

Descarte:

P501 Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com a regulamentação local.

■ Símbolos Gráficos



Dispositivo
médico para
diagnóstico
in vitro



Representante
autorizado na
Comunidade
Europeia



Consulte as
instruções
de uso



Conformidade
Europeia



Número do
catálogo



Limite de
temperatura



Fabricante



Data de
validade



Atenção



Código do lote



Este lado
para cima



Identificador
exclusivo do
dispositivo

■ Referências

1. Mair J, Puschendorf B. Current aspects in the laboratory diagnosis of acute myocardial infarction. *Lab Med* 1995;19:304-318.
2. Drexet H, Dworzak E, Kirchmair W, Milz HH, Puschendorf B, Dienstl F. Myoglobulinemia in the early phase of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1983; 105, 642-651.
3. Gibler B, Gibler C, Weinshenker E, Abottsmith C, et al. Myoglobin as an early indicator of acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1987; 16, 851-856.
4. Isakov A, Shapira I, Burke M, Almog C. Serum myoglobin levels in patients with ischemic myocardial insult. *Arch Intern Med* 1988; 148, 1762-1765.
5. Bastagli L, Guardigli G, Ruffini M, et al. Changes in plasma myoglobin levels in ischemic heart diseases. *G Clin Med* 1989; 70, 733-742.
6. Ohman EM, Casey C, Bengtson JR et al. Early detection of acute myocardial infarction: additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevation. *Br Heart J* 1990;63:335-338.
7. Tierney MB, Roth BJ, Psaty B, et al. Predictors of myocardial infarction in emergency rooms patients. *Crit Care Med* 1985; 13, 526-531.
8. Mair J, Artner-Dworzak E, Leichleitner P, Morass B, Smidt J, Wagner J, Dienstl F, Puschendorf B. Early diagnosis of acute myocardial infarction by a newly developed rapid immunoturbidimetric assay for myoglobin. *Br Heart J* 1992; 68, 462-468.
9. Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988; 34:27-33.

10. Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.
11. Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.
12. CLSI. EP5-A2: Vol. 24, No. 25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method; Approved Guideline - Second Edition.

© 2015-2025 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.
Todos os direitos reservados



Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.
Endereço: Mindray Building, Keji 12th Road South, High-Tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057, P. R. China
Endereço de e-mail: service@mindray.com
Site: www.mindray.com
Tel.: +86-755-81888998
Fax: +86-755-26582680
Representante da EC: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)
Endereço: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Germany
Tel.: 0049-40-2513175
Fax: 0049-40-255726

Regularizado por:

Mindray do Brasil Comércio e Distribuição de Equipamentos Médicos Ltda.

Av. Pompéia, 634 conj. comercial 406. Vila Pompéia

São Paulo - SP

CEP: 05022-000

CNPJ: 09.058.456/0001-87

ANVISA nº: 80943610258

Assistência Técnica/Serviço de Atendimento ao Cliente

0800 0202 841

sac.br@mindray.com

"Termos e condições de garantia: A Mindray do Brasil garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções de uso sejam seguidos corretamente."

P/N: 046-023620-00 (3.0)