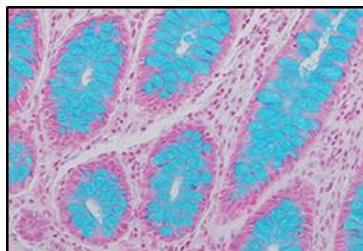


Alcian Blue Staining Kit

REF

860-002

05279186001

IVD
 75


Rys. 1. Tkanka okrężnicy wybarwiona przy użyciu zestawu Alcian Blue Staining Kit

PRZEZNACZENIE

Zestaw Alcian Blue Staining Kit jest przeznaczony do użytku laboratoryjnego do jakościowego barwienia histologicznego w celu uwidocznienia słabo kwasowych mukopolisacharydów z wykorzystaniem mikroskopii świetlnej w skrawkach tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPE) wybarwionych w aparacie BenchMark Special Stains.

Wynik powinien zostać zinterpretowany

przez wykwalifikowanego patomorfologa na podstawie badań histopatologicznych, odpowiednich danych klinicznych i właściwych kontroli.

Ten produkt jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce in vitro (IVD)

STRESZCZENIE I INFORMACJE OGÓLNE

Mukopolisacharydy (mucyny) są kluczowym składnikiem komórek kubkowych, będących komórkami nabłonka błony śluzowej jelita, których funkcją jest synteza i wydzielanie śluzu.¹ Komórki kubkowe zazwyczaj są obecne w nabłonku jelita cienkiego i grubego, natomiast zwykle nie występują w nabłonku przełyku i żołądka.²

Właściwości chemiczne barwnika Alcian Blue umożliwiają detekcję słabo kwasowych mucyn w komórkach kubkowych. Barwnik o pH 2.5 barwi na niebiesko wyłącznie polisacharydy kwasowe (nie barwi mucyn obojętnych).^{3,4}

Patomorfolodzy używają zestawu Alcian Blue Staining Kit pomocniczo w celu identyfikacji komórek kubkowych. Komórki kubkowe obecne w przełyku i żołądku wskazują na nieprawidłowy stan, a ich wybarwienie jest wykorzystywane przez patomorfologów pomocniczo do rozpoznawania metaplasji jelitowej i przełyku Barretta.

ZASADA DZIAŁANIA

Reakcja barwienia polega na reakcji odczynnika Alcian Blue o pH 2.5 i związków polianionowych. Odczynnik Alcian Blue to wielowartościowy, rozpuszczalny w wodzie barwnik zasadowy, którego niebieski kolor pochodzi od kompleksu ftalocyanina-miedź, modyfikowanego kationowymi środkami solubilizującymi.^{3,5} Podczas tej reakcji między odczynnikiem Alcian Blue a kwasowymi ugrupowaniami funkcyjnymi kwasowych mukopolisacharydów powstają mostki solne, co prowadzi do wybarwienia mukopolisacharydów na kolor niebieski. Następnie nanoszony jest odczynnik Nuclear Fast Red Counterstain, który barwi kontrastowo tło na barwę różową.

Zestaw został zoptymalizowany do użytku w aparatach BenchMark Special Stains. Odczynniki są наносzone na tkankę umieszczoną na szkiełku mikroskopowym, a następnie mieszane na całej powierzchni próbki.

DOSTARCZONE MATERIAŁY

Fiolki z odczynnikami są dostarczane w oznaczonych etykietami z kodami kreskowymi nośnikach, gotowych do umieszczenia w tacy na odczynniki aparatu. Każdy zestaw zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przeprowadzenia 75 testów.

Jedna fiołka 22 mL odczynnika Alcian Blue zawiera błękit alcajański w stężeniu 1.2% w roztworze o 3% stężeniu kwasu octowego.

Jedna fiołka 22 mL odczynnika Nuclear Fast Red Counterstain zawiera czerwień jądrową trwałą w stężeniu około 0.2% oraz siarczan glinu w stężeniu około 5%.

Dwie wkładki do fiolek ze słómkami do zasysania.

Odtwarzanie, mieszanie, rozcieńczanie, miareczkowanie

Odtwarzanie, mieszanie, rozcieńczanie lub miareczkowanie odczynników wchodzących w skład zestawu nie jest konieczne. Dalsze rozcieńczanie któregokolwiek z odczynników może doprowadzić do uzyskania niezadowolających wyników barwienia.

Odczynniki zawarte w tym zestawie zostały rozcieńczone w sposób optymalny do użycia w aparacie BenchMark Special Stains.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Nie wszystkie produkty przedstawione w arkuszu metody są dostępne we wszystkich regionach geograficznych. Odpowiednich informacji udzieli lokalny przedstawiciel działu pomocy technicznej.

Wymienione niżej odczynniki i materiały mogą być potrzebne do przeprowadzenia barwienia, ale nie są dostarczane:

1. Zalecana tkanka kontrolna
2. Szkiełka mikroskopowe, naładowane dodatnio
3. Aparat BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (nr kat. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (nr kat. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (nr kat. 860-041 / 08309817001)
7. Sprzęt laboratoryjny do ogólnego użytku

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Zestaw Alcian Blue Staining Kit należy przechowywać w temperaturze 15–30°C.

Prawidłowo przechowywane odczynniki (otwierane lub nieotwierane) zachowują stabilność do daty podanej na etykiecie.

Nie należy używać odczynnika po upływie daty ważności wskazanej na opakowaniu zestawu.

Nie stwierdzono jednoznacznych oznak, które mogłyby wskazywać na niestabilność tych odczynników; dlatego podczas badania nieznanymi preparatami należy jednocześnie wykonać badanie kontroli. Jeśli w materiale do kontroli dodatniej doszło do obniżenia intensywności barwienia należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej, ponieważ może to wskazywać na niestabilność odczynnika.

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Do stosowania z tym produktem oraz aparatem BenchMark Special Stains wymagane są rutynowo przygotowane tkanki FFPE. Zalecanym środkiem do utrwalania tkanek jest obojętna zbuforowana formalina w stężeniu 10%.⁶

Próbki należy pobierać i przechowywać zgodnie z wytycznymi zawartymi w publikacji Histotechnology: A Self Instructional Text.⁶ Tkanki należy pociąć na skrawki o odpowiedniej grubości (około 4 µm) i umieścić je na dodatnio naładowanych szkiełkach podstawowych.

1. Osuszyć preparaty.⁶
2. Wydrukować etykiety z odpowiednimi kodami kreskowymi.
3. Przed załadowaniem preparatów do aparatu na matowy koniec szkiełka nakleić etykiety z kodami kreskowymi (informacje dotyczące prawidłowego naklejania etykiet znajdują się w przewodniku użytkownika aparatu).

Informacje na temat zalecanego protokołu barwienia w aparacie BenchMark Special Stains znajdują się w części dotyczącej instrukcji stosowania.


OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Do stosowania w diagnostyce in vitro (IVD).
2. Wyłącznie do użytku profesjonalnego.
3. **PRZESTROGA:** W Stanach Zjednoczonych prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zlecenie lekarza. (Rx Only).
4. Nie wykonywać większej liczby testów niż liczba określona na etykiecie.
5. Naładowane dodatnio szkiełka podstawowe mogą być podatne na czynniki środowiskowe powodujące niewłaściwe barwienie. Aby uzyskać więcej informacji na temat postępowania ze szkiełkami tego typu, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.
6. Materiały pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego należy traktować jako materiały stanowiące zagrożenie biologiczne i usuwać je z zachowaniem właściwych środków ostrożności. W przypadku narażenia należy przestrzegać wytycznych określonych w dyrektywach wydanych przez właściwe organy.^{7,8}

- Unikać kontaktu odczynników z oczami i błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu odczynników z wrażliwymi miejscami splukiwać obficie dużą ilością wody.
- Unikać skażenia mikrobiologicznego odczynników ze względu na możliwość otrzymania nieprawidłowych wyników.
- Aby uzyskać więcej informacji dotyczących stosowania tego wyrobu, należy zapoznać się z przewodnikiem użytkownika aparatu BenchMark Special Stains oraz instrukcjami stosowania wszystkich wymaganych elementów. Instrukcje te można znaleźć pod adresem navifyportal.roche.com.
- W celu uzyskania informacji na temat zalecanej metody użycia produktu należy skontaktować się z władzami lokalnymi i/lub krajowymi.
- Oznakowanie dotyczące bezpieczeństwa produktu jest przede wszystkim zgodne z wytycznymi GHS UE. Karta charakterystyki jest dostępna na życzenie profesjonalnego użytkownika.
- W celu zgłoszenia podejrzenia wystąpienia poważnych incydentów związanych z tym wyrobem należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche i właściwym organem państwa członkowskiego lub kraju, którego rezydentem jest użytkownik.

Ten produkt zawiera elementy sklasyfikowane w określony poniżej sposób zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008:

Tab. 1. Informacje o zagrożeniach.

Zagrożenie	Kod	Zwrot
	H290	Może powodować korozję metali.
	H318	Powoduje poważne uszkodzenie oczu.
	P234	Przechowywać wyłącznie w oryginalnym opakowaniu.
	P280	Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy.
	P305+ P351+ P338+ P310	W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.
	P390	Usunąć wyciek, aby zapobiec szkodom materialnym.

INSTRUKCJA STOSOWANIA

Przygotowanie fiołki z odczynnikami

Do fiołki z odczynnikami, przed jej pierwszym użyciem, należy włożyć wkładkę do fiołki ze słomką do zasysania.

Z fiołki należy zdjąć zatyczkę, a następnie umieścić w niej wkładkę ze słomką do zasysania. Wkładka i słomka do zasysania powinny pozostać w fiołce po jej otwarciu.

Procedura barwienia

- Odczynniki i preparaty umieścić w aparacie.
- Gdy odczynnik jest używany, miękką zatyczkę umieścić w otworze uchwytu na odczynniki.
- Cykł barwienia przeprowadzić zgodnie z zalecanym protokołem opisanym w Tab. 2 oraz instrukcjami zawartymi w przewodniku użytkownika.
- Po zakończeniu cyklu barwienia wyjąć preparaty z aparatu.
- Gdy odczynnik nie jest używany, zamknąć fiołkę z odczynnikami miękką zatyczką.
- Po użyciu odczynniki należy przechowywać zgodnie z zalecanymi warunkami przechowywania.

Zalecany protokół

Parametry procedur zautomatyzowanych mogą być wyświetlane, drukowane i edytowane zgodnie z procedurą opisaną w przewodniku użytkownika aparatu.

Niniejsze procedury można dostosowywać zgodnie z preferencjami użytkownika. Ten produkt został zoptymalizowany do użycia w aparacie BenchMark Special Stains, jednak użytkownik musi zwalidować wyniki uzyskiwane za pomocą tego produktu.

Tab. 2. Zalecany protokół barwienia przy użyciu zestawu Alcian Blue Staining Kit w aparacie BenchMark Special Stains.

Procedura barwienia	S Alcian Blue Staining Kit
Etap protokołu	Metoda
Odparafinowanie	Wybór tej opcji powoduje zautomatyzowane usuwanie parafiny podczas procedury.
Wypiekanie (opcjonalne)	Wartość domyślna nie jest wybrana. Zalecane 4 minuty w temperaturze 75°C.
Optymalizacja intensywności barwienia (Alcian Blue)	Czas domyślny to 8 minut. Wybrać, aby dostosować intensywność barwienia.* Można wybrać czas inkubacji od 4 do 20 minut: 4 minuty — jaśniejsze wybarwienie mucyny 20 minut — ciemniejsze wybarwienie mucyny
Optymalizacja intensywności barwienia kontrastowego (Alcian Blue NFR)	Czas domyślny to 4 minuty. Wybrać, aby dostosować intensywność barwienia kontrastowego.* Można wybrać czas inkubacji od 4 do 16 minut: 4 minuty — jaśniejsze barwienie kontrastowe 16 minut — ciemniejsze barwienie kontrastowe

* Aby dostosować preferencje barwienia, należy krokowo zwiększać parametry dotyczące temperatury barwienia i czasu inkubacji, dokonując zmiany tylko jednego z parametrów na raz.

Zalecane procedury postępowania po obróbce w urządzeniu

- W celu usunięcia pozostałości roztworu odwodnić preparaty w 95-procentowym etanolu (płukać dwukrotnie, po pierwszym płukaniu roztwór należy wymienić na nowy i przepłukać preparaty ponownie), a następnie w 100-procentowym etanolu (preparaty należy płukać trzykrotnie, za każdym razem wymieniając roztwór na nowy).
- Oczyścić preparaty poprzez płukanie w 100-procentowym ksylenie (preparaty należy płukać trzykrotnie, za każdym razem wymieniając roztwór na nowy).
- Nalozyc szkiełko nakrywkowe ze środkiem do ostatecznego zatapiania.

Protokół nakładania szkiełek nakrywkowych zgodny z systemem VENTANA HE 600. Aby uzyskać więcej informacji na ten temat, należy zapoznać się z przewodnikiem użytkownika systemu VENTANA HE 600.

PROCEDURA KONTROLI JAKOŚCI

Przykładowy materiał do kontroli dodatniej to ludzkie tkanki FFPE, w których obecne są kwasowe mucyny lub kwasowe mukopolisacharydy, takie jak tkanka okrężnicy lub jelita cienkiego. Tkanki kontrolne powinny być próbkami świeżo pobranymi z autopsji, biopsji lub chirurgicznie i powinny zostać przygotowane lub utrwalone jak najszybciej w identyczny sposób jak skrawki badane. Takie tkanki powinny być wykorzystywane do monitorowania wszystkich kroków procedury, od przygotowania tkanki po jej barwienie.

Użycie skrawka tkanki utrwalonego lub poddanego obróbce w sposób inny niż próbka badana umożliwia kontrolę wszystkich odczynników oraz kroków metody z wyjątkiem utrwalań i obróbki tkanki. Składniki komórkowe obecne w innych elementach tkanek mogą służyć jako kontrole ujemne.

Zgodnie z optymalną praktyką laboratoryjną na szkiełko, na którym jest tkanka badana, należy dodać skrawek tkanki będący kontrolą dodatnią. To pomoże zidentyfikować wszelkie niepowodzenia związane z nałożeniem odczynników na preparat. Tkanki kontrolne mogą zawierać zarówno elementy dające odczyn dodatni, jak i ujemny, a zatem mogą być stosowane jednocześnie jako dodatnia i ujemna próba kontrolna.

W każdym cyklu barwienia należy uwzględnić tkankę kontrolną.

Znane dodatnie kontrole tkankowe powinny być stosowane wyłącznie w celu monitorowania prawidłowego przebiegu barwienia poddanych obróbce tkanek i działania odczynników testowych, a nie pomocniczo do określania rozpoznania dla próbek pacjentów.

Jeśli nie udaje się potwierdzić dodatniego barwienia w dodatnich elementach tkanki, należy uznać, że wyniki próbek badanych są nieważne. Jeśli elementy ujemne wykazują barwienie dodatnie, również należy uznać, że wyniki badanych próbek pacjenta są nieważne.

Niewyjaśnione rozbieżności w wynikach kontroli należy niezwłocznie zgłosić lokalnemu przedstawicielowi działu pomocy technicznej. Jeśli kontrola jakości nie spełnia wymogów, wyniki pacjenta są nieważne. Należy zidentyfikować i rozwiązać problem, a następnie wykonać ponowne barwienie próbek pacjenta.

INTERPRETACJA WYBARWIENIA / OCZEKIWANE WYNIKI

Zestaw Alcian Blue Staining Kit jest testowany po wyprodukowaniu pod kątem możliwości uwidaczniania słabo kwasowych mukopolisacharydów.

Słabo kwasowe mukopolisacharydy (mucyny): barwa jasnoniebieska

Jądra komórkowe: barwa różowa do czerwonej

Cytoplazma: barwa różowa

W komórkach innych niż komórki kubkowe zaobserwowano niebieskie wybarwienie.

SZCZEGÓLNE OGRANICZENIA

Na potrzeby tego testu używano tylko dodatnio naładowanych szkiełek mikroskopowych; jego działanie zostało zwalidowane wyłącznie przy użyciu takich szkiełek.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

SKUTECZNOŚĆ ANALITYCZNA

Przeprowadzono badania barwienia pod kątem jego czułości, swoistości i precyzji. Wyniki tych badań zamieszczono poniżej.

Czułość i swoistość

Oceniono czułość i swoistość analityczną barwienia prawidłowych i zmienionych chorobowo tkanek przewodu pokarmowego. Sześćdziesiąt jeden z 62 (98,4%) ocenianych przypadków tkanek spełniało kryteria akceptowalności barwienia, jak przedstawia Tab. 3 i Tab. 4.

Tab. 3. Czułość/swoistość zestawu Alcian Blue Staining Kit wyznaczono, wykonując badania na próbkach następujących prawidłowych tkanek FFPE.

Tkanka	Liczba przypadków z akceptowalnym barwieniem / Liczba przypadków badanych
Przełyk	7 / 7
Żołądek	10 * / 11
Jelito cienkie	9 / 9
Okreźnica	5 / 5

* W jednym przypadku w komórkach innych niż komórki kubkowe zaobserwowano nadmierne niebieskie wybarwienie

Tab. 4. Czułość/swoistość zestawu Alcian Blue Staining Kit wyznaczono, wykonując badania na próbkach następujących zmienionych chorobowo tkanek FFPE.

Tkanka	Liczba przypadków z akceptowalnym barwieniem / Liczba przypadków badanych
Metaplaszja jelitowa (żołądka)	8 / 8
Metaplaszja jelitowa (przełyku)	8 / 8
Przełyk Barretta	14 / 14

Precyzja

Precyzję zestawu Alcian Blue Staining Kit określono w wielu cyklach barwienia, dniach, aparatach oraz przy użyciu wielu partii odczynników. W badaniach wybarwiono wiele preparatów ciętych skrawków tkanek przygotowanych z 3 przypadków prawidłowych tkanek okreźnicy oraz 3 przypadków prawidłowych tkanek jelita cienkiego. Wszystkie kryteria akceptacji zostały całkowicie spełnione. Badania precyzji zestawu Alcian Blue Staining Kit przeprowadzono zgodnie z warunkami, które przedstawia Tab. 5.

Tab. 5. Badania precyzji barwienia preparatu przy użyciu zestawu Alcian Blue Staining Kit.

Testowane parametry	Liczba warunków	Liczba preparatów z akceptowalnym barwieniem / Liczba preparatów badanych
Między cyklami	3 cykle tego samego dnia	54 / 54
Między dniami	5 dni	90 / 90
Między aparatami	3 aparaty	54 / 54
W ramach cyklu	tego samego dnia, ten sam aparat	54 / 54
Między partiami	3 partie	54 / 54

ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW

- Grubość tkanki może wpływać na jakość i intensywność barwienia. Jeśli tkanka jest nieodpowiednio wybarwiona, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.
- Tkanka nekrotyczna lub po autolizie może wykazywać barwienie nieswoiste.
- Jeśli dla kontroli dodatniej otrzymano wynik ujemny, tkanki mogły zostać niewłaściwie pobrane, utrwalone lub odparafinowane. Przestrzegać odpowiednich procedur pobierania, przechowywania i utrwalaania.
- Jeśli dla kontroli dodatniej otrzymano wynik ujemny, upewnij się, czy preparat jest oznaczony odpowiednią etykietą z kodem kreskowym. Jeśli preparat jest oznaczony prawidłową etykietą, należy sprawdzić barwienie w innych kontrolach dodatnich wybarwionych podczas tego samego cyklu barwienia, aby określić, czy zostały poprawnie wybarwione.
- Nadmierne wybarwienie tła może być spowodowane niekompletnym usunięciem parafiny, przez co tkanka mogła nie zostać wybarwiona lub mogło dojść do wystąpienia artefaktów podczas barwienia. Jeśli z preparatu nie usunięto całej parafiny, należy powtórzyć cykl barwienia z wybraną opcją przedłużonego odparafinowania, jeżeli jest ona dostępna.
- Jeśli skrawki tkanek są wypłukiwane ze szkiełek, należy sprawdzić, czy szkiełka są naładowane dodatnio.
- Pozostawienie preparatów w aparacie na dłuższy czas po ukończeniu cyklu barwienia może mieć wpływ na jakość i intensywność barwienia. Jeśli preparaty są nieodpowiednio wybarwione, należy je wyciągnąć z aparatu niezwłocznie po ukończeniu cyklu i przystąpić do procedury postępowania po obróbce w aparacie.
- Aby uzyskać informacje o środkach zaradczych, należy zapoznać się z częścią dotyczącą instrukcji stosowania, przewodnikiem użytkownika aparatu lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.

BIBLIOGRAFIA

- Dao D, Le, PH. Histology, Goblet Cells. In:04/09/2020 ed. Treasure Island, FL: StatPearls; 2020.
- Pleskow D, Tolga E. Barrett's Esophagus: Emerging Evidence for Improved Clinical Practice. Elsevier Inc.; 2016.
- Scott JE. Alcian dyes: I.C.I. cease manufacture and release details of composition. Histochemie. 1973;37(4):379-380.
- Scott JE, Quintarelli G, Dellovo MC. The chemical and histochemical properties of Alcian Blue. I. The mechanism of Alcian Blue staining. Histochemie. 1964;4(2):73-85.
- Fagan C, Dapson RW, Horobin RW, Kiernan JA. Revised tests and standards for Biological Stain Commission certification of Alcian blue dyes. Biotech Histochem. 2020;95(5):333-340.
- Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

UWAGA: W tym dokumencie jako separator dziesiętny do zaznaczenia granicy między częścią całkowitą a ułamkową liczby dziesiętnej zawsze używana jest kropka. Nie jest używany separator tysięcy.

Podsumowanie danych dotyczących bezpieczeństwa i skuteczności można znaleźć pod adresem:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Symbole

Firma Ventana stosuje określone poniżej symbole i oznaczenia dodatkowo do symboli wymienionych w normie ISO 15223-1 (dotyczy Stanów Zjednoczonych: więcej informacji można znaleźć pod adresem elabdoc.roche.com/symbols).



Globalny Numer Jednostki Handlowej



Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu



Wskazuje podmiot odpowiedzialny za import wyrobu medycznego do Unii Europejskiej

HISTORIA ZMIAN

Wer.	Aktualizacje
L	Zaktualizowano informacje zawarte w następujących częściach: Ostrzeżenia i środki ostrożności, Bibliografia i Symbole.

WŁASNOŚĆ INTELEKTUALNA

VENTANA, BENCHMARK, VENTANA HE i logo VENTANA są znakami towarowymi firmy Roche. Wszystkie pozostałe znaki towarowe stanowią własność odpowiednich właścicieli.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

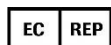
DANE KONTAKTOWE



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA

+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

