

VENTANA Silver ISH BF Detection Kit

REF

760-513

08507031001

IVD

Σ 60

USO PREVISTO

VENTANA Silver ISH BF Detection Kit es un sistema indirecto de detección de dianas marcadas con BF. El kit está destinado a la identificación de dianas mediante hibridación in situ (ISH) con plata en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina que se han teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

La interpretación de los resultados de tinción debe correr a cargo de un anatomopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este reactivo está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

En general, la hibridación in situ (ISH) emplea sondas marcadas para detectar las secuencias diana de ADN o ARN específicas en secciones de tejido fijadas. Las secuencias de ácidos nucleicos diana se exponen mediante la desnaturalización de los ácidos nucleicos por efecto del calor. La reacción se deja enfriar posteriormente, lo que permite que las sondas marcadas con ácido nucleico hibriden con la secuencia de ácido nucleico complementaria.

En la técnica indirecta de detección del kit se emplean un anticuerpo dirigido contra una sonda marcada con hapteno, un paso de amplificación con tiramida y base de HRP y un sistema de sustrato-cromógeno en el que participa HRP (consulte la Figura 1).

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

Una vez que se han llevado a cabo la hibridación de la sonda y los lavados de restricción, el anticuerpo anti-BF marcado con HRP detecta la sonda marcada con benzofurazano (BF) que se ha unido a la diana. La amplificación de la señal se logra a través de la oxidación catalizada mediante HRP del BF que se ha unido a la tiramida a través de H_2O_2 . La forma oxidada y reactiva de la tiramida se une a los residuos de tirosina, lo que incrementa la concentración local del hapteno de BF. Esta unión adicional de BF se detecta mediante una segunda aplicación del anticuerpo anti-BF marcado con HRP. La señal puede visualizarse mediante la reducción de Ag^+ soluble a Ag^0 insoluble con hidroquinona en una reacción que catalizan HRP y H_2O_2 .

El protocolo de tinción está formado por diversos pasos en los que los reactivos se incuban durante periodos predeterminados y a temperaturas específicas. Al final de cada paso de incubación, el instrumento BenchMark lava las secciones para eliminar el material que no se ha ligado y aplica un cubreobjetos líquido que minimiza la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos. Los resultados se interpretan mediante microscopía óptica y contribuyen al diagnóstico diferencial de los procesos patofisiológicos que pueden estar asociados con una tinción positiva para la sonda.

Para obtener información más detallada sobre el funcionamiento del instrumento, consulte el Manual del usuario correspondiente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material suministrado

El kit VENTANA Silver ISH BF Detection Kit (VENTANA BF Detection Kit) contiene reactivo suficiente para 60 pruebas.

Un dispensador de 24 mL	de VENTANA Silver ISH BF HRP contiene un anticuerpo monoclonal de ratón anti-BF marcado con HRP (~1.25 µg/mL) en una solución de proteína con tampón MOPS con el conservante ProClin.
Un dispensador de 12 mL	de VENTANA Silver ISH BF Tyramide Amplifier contiene una tiramida marcada con BF (~17.7 µg/mL) en un tampón acuoso con el conservante ProClin (~10 % de C_2H_6OS).
Un dispensador de 12 mL	de VENTANA Silver ISH BF Chromogen A contiene aproximadamente 0.4 % de CH_3COOAg en una solución acuosa.

Un dispensador de 6 mL

Un dispensador de 6 mL

de VENTANA Silver ISH BF Chromogen B contiene aproximadamente 0.2 % de $C_6H_6O_2$ en un tampón acuoso.

de VENTANA Silver ISH BF Chromogen C contiene aproximadamente 0.1 % de H_2O_2 en una solución acuosa.

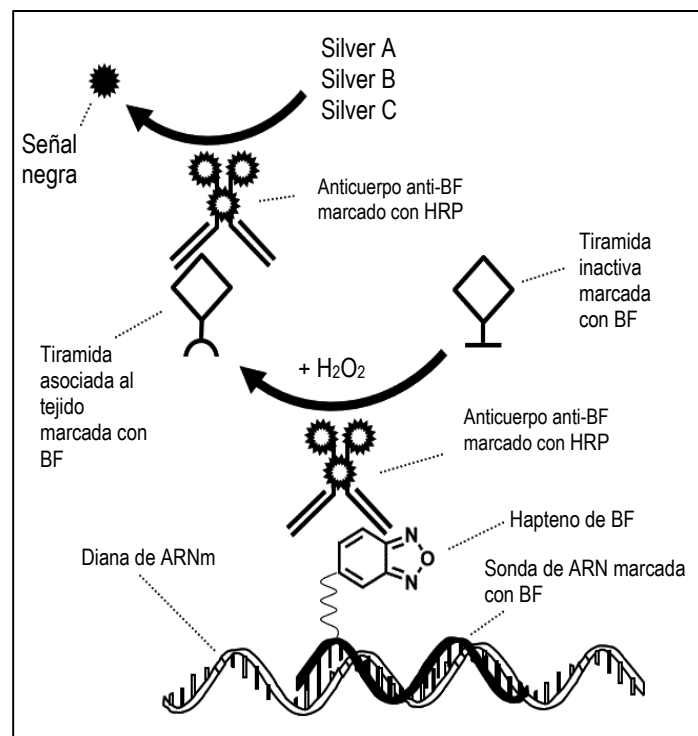


Figura 1. VENTANA Silver ISH BF Detection Kit

Reconstitución, mezcla, dilución, titulación

El kit de detección se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark IHC/ISH. No son necesarias la reconstitución, la mezcla, la dilución ni la titulación de los reactivos del kit. Una dilución mayor puede dar lugar a una reducción de la calidad de tinción.

Materiales necesarios pero no suministrados

No se suministran reactivos de tinción, como la sonda ni los componentes auxiliares. Puede que no todos los productos que aparecen en la hoja de datos estén disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Sonda ISH marcada con BF
2. VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit (n.º cat. 760-514 / 08507201001)
3. ISH TSA Ancillary Kit (n.º cat. 760-515 / 08507082001)
4. ISH Peroxidase Inhibitor (n.º cat. 780-5061 / 07729014001)
5. HybReady Solution (n.º cat. 780-4409 / 05917557001)
6. ISH Protease 3 (n.º cat. 780-4149 / 05273331001)
7. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
8. Bluing Reagent (n.º de cat. 760-2037 / 05266769001)
9. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
10. SSC (10X) (n.º cat. 950-110 / 05353947001)
11. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
12. ULTRA CC1 (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
13. ULTRA CC2 (n.º cat. 950-223 / 05424542001)
14. ULTRA LCS (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
15. ultraView Silver Wash II (n.º cat. 780-003 / 05446724001)

16. Portaobjetos para microscopio, Superfrost™ Plus
17. Instrumento BenchMark IHC/ISH
18. Equipo de laboratorio de uso general

Almacenamiento y estabilidad

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvese de 2-8°C. No lo congele. Este kit de se puede utilizar de inmediato tras extraerlo de la nevera.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad de los componentes del kit, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacénalo inmediatamente en la nevera, en posición vertical.

Este kit contiene fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

Recogida y preparación de muestras para análisis

Los tejidos fijados con formol y embebidos en parafina que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con VENTANA BF Detection Kit. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 % (NBF) durante un periodo de entre 6 y 72 horas.¹

Las secciones deben cortarse con el grosor adecuado de 4 µm y se deben colocar en portaobjetos con carga positiva (Superfrost™ Plus). Es necesario drenar o secar los portaobjetos para eliminar cualquier resto de agua que se encuentre entre el portaobjetos y el tejido antes de pasar a la tinción con el instrumento BenchMark IHC/ISH. Es posible que se obtengan resultados variables como consecuencia del grosor de la sección de tejido, el tipo de fijación, una fijación incompleta/prolongada o bien de procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Los portaobjetos con carga positiva pueden ser sensibles a tensiones ambientales que ocasionen una tinción inapropiada de cualquier ensayo de ISH (por ejemplo, falta de tinción o contratinción en el tejido). Solicite a su representante de servicio de Roche una copia de «Impact of Environmental Stress on various histology slide types» para comprender mejor cómo utilizar estos tipos de portaobjetos.

Se recomienda que los portaobjetos de control se ejecuten simultáneamente con las muestras desconocidas. Cabe destacar que la señal de plata puede ir desvaneciéndose poco a poco con el tiempo si se encuentra expuesta a la luz de forma prolongada. Este detalle no tiene por qué repercutir en las prácticas clínicas normales, pero los portaobjetos se deben conservar protegidos de una fuente de iluminación directa cuando no se están utilizando.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
4. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en esta solución. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de los reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
5. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales potencialmente biopeligrosos y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{2,3}
6. Adopte las precauciones razonables cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de los reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice guantes y póngase el equipo de protección personal cuando vaya a manipular material tóxico y sustancias posiblemente carcinógenas.
7. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Evite la inhalación de los reactivos.
8. Asegúrese de que el recipiente de residuos está vacío antes de comenzar una sesión con el instrumento. Si no toma estas precauciones, el recipiente de residuos puede llegar a rebosar y el usuario corre el riesgo de resbalar y caerse.
9. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría producir a resultados incorrectos.
10. Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las hojas de datos de todos los componentes necesarios, que puede encontrar en navifyportal.roche.com.

11. Consulte a las autoridades locales o nacionales para conocer el método de eliminación recomendado.
12. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
13. Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este kit de detección contiene componentes clasificados como sigue de acuerdo con la Normativa (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	P261	Evite inhalar la niebla o los vapores.
	P272	Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.
	P280	Llevar guantes de protección.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
	P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

EUH208: Contiene hidroquinona, mezcla de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona y 2-metil-2H - isotiazol-3-ona (3:1). Puede provocar una reacción alérgica.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

VENTANA BF Detection Kit se ha creado para su uso con los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los reactivos auxiliares VENTANA. Los protocolos de tinción se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento que se describe en el Manual del usuario del instrumento. El instrumento contiene otros parámetros de funcionamiento predefinidos en fábrica.

Los procedimientos de tinción de los instrumentos BenchMark IHC/ISH se detallan a continuación. Si desea obtener instrucciones más detalladas y opciones adicionales de protocolos, consulte el Manual del usuario o la hoja de datos de la sonda correspondiente.

Instrumentos BenchMark IHC/ISH

1. Coloque la etiqueta de código de barras de portaobjetos que se corresponda con el protocolo que se va a llevar a cabo.
2. Cargue la sonda y los dispensadores del kit de detección correspondiente, así como el reactivo auxiliar necesario, en la bandeja de reactivos y colóquelos en el instrumento.
3. Compruebe los fluidos y los vacíe los residuos.
4. Cargue los portaobjetos en el instrumento.
5. Inicie la sesión de tinción.
6. Cuando haya finalizado la sesión, retire los portaobjetos del instrumento.
7. Vaya a la sección Procedimientos de procesamiento post-instrumento recomendados.

Procedimientos de procesamiento post-instrumento recomendados

Nota: Para garantizar la deshidratación total, es necesario cambiar las soluciones de etanol periódicamente y se puede añadir una tercera solución de etanol al 100 %.

1. Para eliminar la solución Liquid Coverslip, lave de forma secuencial los portaobjetos en dos soluciones de detergente lavavajillas suave (no debe utilizarse detergente desarrollado para lavavajillas automáticos).
2. Enjuague bien los portaobjetos con agua destilada durante aproximadamente 1 minuto. Retire el exceso de agua.
3. Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 90 % durante aproximadamente 1 minuto.
4. Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 100 % durante aproximadamente 1 minuto.

5. Transfiera los portaobjetos a la segunda solución de etanol al 100% durante aproximadamente 1 minuto.
6. Transfiera los portaobjetos a una solución de xileno durante aproximadamente 1 minuto.
7. Transfiera los portaobjetos a la segunda solución de xileno durante aproximadamente 1 minuto.
8. Coloque el cubreobjetos en el portaobjetos. Cabe destacar que ciertos medios de montaje no son compatibles con VENTANA BF Detection Kit (consulte la sección Limitaciones).

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

Control de tejido positivo

Es necesario incluir un control de tejido positivo en cada sesión de procedimiento de tinción que se lleve a cabo. La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que contiene el tejido del paciente. Los componentes de tinción positiva del tejido sirven para comprobar que se han aplicado los reactivos y el instrumento ha funcionado correctamente. Este tejido puede contener células o elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como tejidos de control positivo y negativo. Los controles tisulares internos se usan a discreción del investigador o anatomopatólogo principales. El tejido de control debe ser una muestra de autopsia, biopsia o cirugía, preparada o fijada mediante un proceso idéntico al de las secciones de prueba. El uso de secciones de tejido fijadas o procesadas de forma diferente a la muestra de la prueba actuará como control de comparación en todos los pasos de reactivo y del método en los que influyen la fijación y el procesamiento de tejidos.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los reactivos de la prueba y de los tejidos procesados, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras del paciente. Si los controles de tejido positivo no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Consulte la hoja de datos de la sonda correspondiente para obtener más información sobre las recomendaciones específicas sobre el control de tejido positivo.

Control tisular negativo

Consulte la hoja de datos de la sonda correspondiente, si fuera oportuno.

Control de reactivo positivo

Consulte la hoja de datos de la sonda correspondiente, si fuera oportuno.

Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas en los controles deberían comunicarse al representante local de asistencia técnica de Roche de forma inmediata. Los resultados del paciente no son válidos si los resultados del control de calidad no cumplen con las especificaciones. Identifique el problema y corrija; a continuación, repita las muestras del paciente (consulte la sección Resolución de problemas).

Verificación del ensayo

Antes de comenzar a utilizar un reactivo en un procedimiento diagnóstico, se debe comprobar su rendimiento mediante pruebas en una serie de muestras que contengan características de rendimiento en ISH conocidas (consulte la hoja de datos de la sonda, las recomendaciones sobre control de calidad de College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program Anatomic Pathology Checklist⁴ y CLSI Approved Guideline⁵). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de reactivos, cuando se produzca un cambio en los parámetros del ensayo o cuando se produzca un cambio en la preparación de muestras.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

VENTANA BF Detection Kit provoca que un producto de reacción con color negro se precipite en la secuencia de ácido nucleico que ha hibridado la sonda. Un anatomopatólogo cualificado con experiencia en procedimientos de ISH debe evaluar los controles y calificar el producto con tinción antes de interpretar los resultados.

LIMITACIONES

Limitaciones generales

1. La ISH es una metodología que comprende varios pasos y requiere una formación especializada en cuanto a la correcta elección de los reactivos, el procesamiento y la preparación de las muestras, la preparación de los portaobjetos y la interpretación de los resultados.

2. La tinción del tejido depende de la manipulación y el procesamiento del tejido antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento y corte incorrectos o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede provocar la aparición de artefactos, que los reactivos queden atrapados en el tejido o la obtención de resultados falsos negativos y falsos positivos. La existencia de resultados incoherentes puede ser consecuencia de la introducción de variaciones en los métodos de fijación e inclusión o puede derivarse de las irregularidades características del tejido.
3. Una contratinción incompleta o excesiva puede comprometer la correcta interpretación de los resultados.
4. La interpretación clínica de cualquier tinción se debe evaluar en función del contexto de la historia clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. Es responsabilidad del anatomopatólogo cualificado estar familiarizado con los reactivos y los métodos que se utilizan para preparar la tinción. La tinción se debe llevar a cabo en un laboratorio certificado y con licencia y bajo la supervisión de un anatomopatólogo, que será el responsable de revisar los portaobjetos con tinción y de garantizar la idoneidad de los controles.
5. VENTANA proporciona reactivos con una dilución óptima para su uso siempre que se respeten las instrucciones que se suministran. Cualquier diferencia en la forma de llevar a cabo los procedimientos de prueba recomendados pueden invalidar los resultados previstos. Deben emplearse los controles adecuados y documentarlos. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deberán hacerse responsables de la interpretación de los resultados de la paciente.
6. Los reactivos pueden mostrar reacciones imprevistas en tejidos que no se hayan probado previamente. No es posible descartar totalmente la posibilidad de observar reacciones no previstas incluso en los grupos de tejidos probados, dada la variabilidad biológica de los tejidos. Póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche y documente las reacciones imprevistas.

Limitaciones específicas

1. VENTANA BF Detection Kit se ha desarrollado para su uso con tejidos que se han cortado en secciones de 4 µm de grosor. En las secciones con un grosor inferior o superior puede presentarse una tinción no adecuada y puede haber pérdida de tejido.
2. No todos los medios de montaje son compatibles con el cromógeno de plata. Consulte la Tabla 2 para obtener información sobre los medios de montaje que se han sometido a pruebas.
3. Los portaobjetos teñidos se deben conservar en un lugar oscuro cuando no se utilicen para evitar que el color del cromógeno de plata se desvanezca.
4. El kit de detección, cuando se utiliza junto con las sondas y los accesorios VENTANA, detecta la secuencia de ácido nucleico que permanece una vez se han llevado a cabo la fijación en formol, el procesamiento de tejidos y el corte rutinarios. Como ocurre en cualquier otra prueba, un resultado negativo significa que no se ha detectado una diana concreta en la muestra de tejido, no necesariamente que esta no esté presente en el tejido original sin fijación.
5. El kit de detección se ha optimizado para su uso con los reactivos VENTANA en los instrumentos BenchMark IHC/ISH. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deberán hacerse responsables de la interpretación de los resultados del paciente teniendo en cuenta las circunstancias.
6. Es posible que no todos los kits de detección estén registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche para obtener más información.

Tabla 2. Compatibilidad de los medios de montaje.

Medios de montaje	Fabricante	¿Es compatible?
Acrytol	Electron Microscopy Sciences	Si
Consul-Mount	Epredia	Si
Cytoseal XYL	Richard Allan Scientific	Si
Cytoseal 60	Richard Allan Scientific	Si
Dako Mounting Medium	Dako	Si
Diamount	Diapath	Si
DPX Mountant	CDH	Si
Entellan	Merck	Si

Medios de montaje	Fabricante	¿Es compatible?
Glycergel	Dako	Si
HE600	Roche	Si
HistoCore Spectra CV X1	Leica	Si
Histomount	National Diagnostics	Si
MicroMount	Leica	Si
Canada Balsam	Elabscience	Si
Permout	Electron Microscopy Sciences	Si
Pertex	Histolab	Si
Epredia Synthetic Mountant	Epredia	Si
Sub-X Mounting	Leica	Si
Tissue-Tek Film	Sakura	Si
Entellan New	Merck	No
Eukitt	Merck	No

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Si desea obtener más información sobre las características de rendimiento, consulte la hoja de datos de la sonda correspondiente.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Compruebe que la sección se ha cortado con un grosor de 4 µm y que se ha empleado un medio de montaje compatible.
2. Asegúrese de que los dispensadores de reactivo no están obstruidos ni vacíos. Compruebe el dispensador de la prueba orientando el dispensador hacia el recipiente de residuos y presionando hacia abajo con firmeza la parte superior del cilindro y compruebe que se dispensa una sola gota. Si el dispensador está obstruido o no está dispensando correctamente, póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche y no utilice el dispensador.
3. Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, debe comprobar que los portaobjetos tienen carga positiva.
4. Consulte la sección sobre Resolución de problemas o la hoja de datos de la sonda correspondiente para obtener soluciones a los problemas específicos del ensayo.
5. Si necesita llevar a cabo una acción correctiva, consulte la sección Procedimiento de tinción, el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.

REFERENCIAS

1. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
2. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
3. 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.
4. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2007.
5. CLSI (formerly NCCLS). Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunocytochemistry Assays: Approved Guideline-Second Edition. CLSI document I/LA28-A2 (ISBN 1-56238-745-6). CLSI, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2011.

NOTA: En este documento se ha usado en todo momento el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para USA: consulte elabdoc.roche.com/symbols para obtener más información).



Número mundial de artículo comercial

Rx only

Para USA: Precaución: Las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos.

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev	Actualizaciones
B	Se ha actualizado la sección Advertencias y precauciones. Actualización a la plantilla actual.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, HYBREADY y ULTRAVIEW son marcas comerciales de Roche. Todos los demás nombres de productos y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

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

www.roche.com



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

