

VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit

REF 760-514

08507201001

IVD Σ 60

USO PREVISTO

VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit è un sistema di rilevazione indiretto per la rilevazione di target marcati con DIG. Il kit è destinato all'identificazione dei target tramite ibridazione in situ (ISH) con cromogeno magenta in sezioni di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina colorate su uno strumento BenchMark IHC/ISH.

I risultati della colorazione devono essere interpretati da un patologo qualificato in un quadro che consideri anche gli esami istologici, i dati clinici pertinenti e i controlli adeguati. Il reagente è indicato per uso diagnostico in vitro (IVD).

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

In genere l'ISH utilizza sonde marcate per rilevare specifiche sequenze target di DNA o RNA nelle sezioni di tessuto fissate. Le sequenze di acido nucleico target vengono esposte tramite denaturazione indotta dal calore degli acidi nucleici. La reazione viene quindi lasciata raffreddare per consentire l'ibridazione tra le sonde di acido nucleico marcato e le sequenze complementari di acido nucleico.

La tecnica di rilevazione indiretta usata da questo kit sfrutta un anticorpo diretto contro una sonda marcata con aptene, una fase di amplificazione della tirammide a base di HRP e un sistema substrato-cromogeno mediato da HRP (vedere la Figura 1).

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

In seguito all'ibridazione della sonda e ai lavaggi di stringenza, la sonda marcata con digossigenina legata al target (DIG) viene rilevata attraverso un anticorpo anti-DIG marcato con HRP. L'amplificazione del segnale si ottiene attraverso l'ossidazione catalizzata da HRP della DIG legata a tirammide tramite H_2O_2 . La forma ossidata reattiva di tirammide si lega in maniera covalente ai residui di tirosina, aumentando la concentrazione locale di aptene DIG. Questa ulteriore DIG legata viene rilevata attraverso una seconda applicazione dell'anticorpo anti-DIG marcato con HRP. Infine, il segnale viene visualizzato attraverso un'altra reazione della tirammide, che coinvolge il colorante magenta sulforodamina B legato alla tirammide.

Il protocollo di colorazione è articolato in varie fasi nelle quali i reagenti vengono incubati per periodi pre-determinati a temperature specifiche. Al termine di ogni fase di incubazione, lo strumento BenchMark lava le sezioni per rimuovere il materiale non legato e applica una soluzione coverslip (LCS) che riduce al minimo l'evaporazione dei reagenti acquosi dal vetrino. I risultati vengono interpretati utilizzando un microscopio ottico e possono supportare la diagnosi differenziale di processi fisiopatologici, che possono essere associati o meno alla colorazione positiva della sonda.

Per informazioni più dettagliate sul funzionamento dello strumento, fare riferimento all'opportuna guida per l'utilizzatore.

MATERIALI E METODI

Materiali forniti

VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit (VENTANA DIG Detection Kit) contiene una quantità di reagente sufficiente per 60 test.

Un erogatore da 24 mL di VENTANA Magenta ISH DIG HRP contiene un anticorpo monoclonale di topo anti-DIG marcato con HRP (~1.0 µg/mL) in una soluzione di proteina tamponata MOPS con il conservante ProClin.

Un erogatore da 12 mL di VENTANA Magenta ISH DIG Tyramide Amplifier contiene una tirammide marcata con DIG (~4.01 µg/mL) in un tampone acquoso con il conservante ProClin (~10% C_2H_6OS).

Un erogatore da 12 mL di VENTANA Magenta ISH DIG Tyramide SRB Chromogen contiene una tirammide marcata con SRB (~295 µg/mL) in un tampone acquoso con il conservante ProClin (~20% C_2H_6OS).

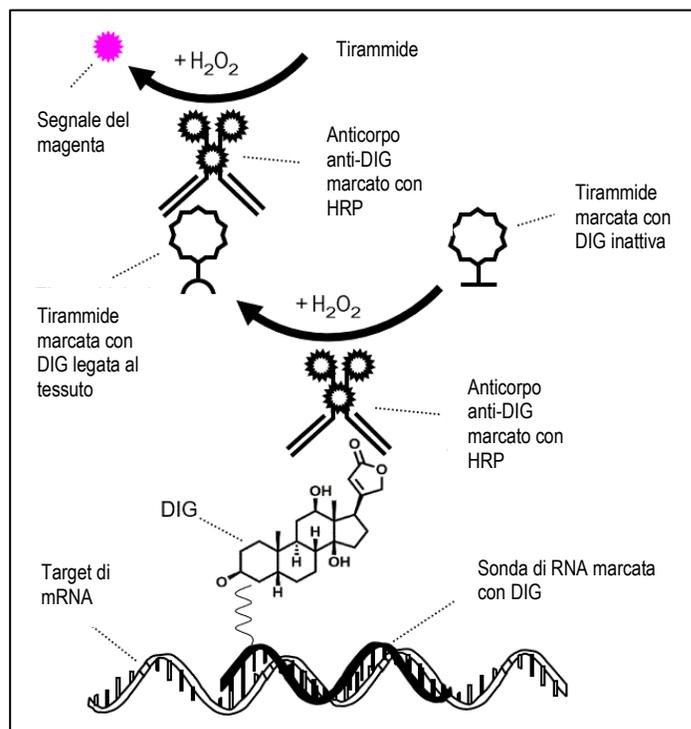


Figura 1. VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit

Ricostituzione, miscelazione, diluizione, titolazione

Il kit di rivelazione è ottimizzato per l'uso su strumenti BenchMark IHC/ISH. Non sono necessarie ricostituzione, miscelazione, diluizione o titolazione dei reagenti del kit. Un'ulteriore diluizione può determinare una riduzione della qualità della colorazione.

Materiali necessari ma non forniti

I reagenti di colorazione, quali sonda e componenti ausiliari, non sono forniti. È possibile che non tutti i prodotti elencati nella scheda metodologica siano disponibili in tutte le aree geografiche. Rivolgersi al rappresentante dell'assistenza locale.

I reagenti e materiali seguenti possono essere necessari per la colorazione ma non sono forniti:

1. Sonda ISH marcata con DIG
2. VENTANA Silver ISH BF Detection Kit (n. di cat. 760-513 / 08507031001)
3. ISH TSA Ancillary Kit (n. di cat. 760-515 / 08507082001)
4. ISH Peroxidase Inhibitor (n. di cat. 780-5061 / 07729014001)
5. HybReady Solution (n. di cat. 780-4409 / 05917557001)
6. ISH Protease 3 (n. di cat. 780-4149 / 05273331001)
7. Hematoxylin II (n. di cat. 790-2208 / 05277965001)
8. Bluing Reagent (n. di cat. 760-2037 / 05266769001)
9. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n. di cat. 950-300 / 05353955001)
10. SSC (10X) (n. di cat. 950-110 / 05353947001)
11. EZ Prep Concentrate (10X) (n. di cat. 950-102 / 05279771001)
12. ULTRA CC1 (n. di cat. 950-224 / 05424569001)
13. ULTRA CC2 (n. di cat. 950-223 / 05424542001)
14. ULTRA LCS (n. di cat. 650-210 / 05424534001)
15. ultraView Silver Wash II (n. di cat. 780-003 / 05446724001)
16. Vetrini per microscopio, Superfrost™ Plus
17. Strumento BenchMark IHC/ISH
18. Attrezzatura di laboratorio per uso generico

Conservazione e stabilità

Alla ricezione e quando non è in uso, il prodotto va conservato a 2-8 °C. Non congelare. Questo kit di può essere utilizzato subito dopo la rimozione dal frigorifero.

Per garantire la corretta erogazione di reagente e la stabilità dei componenti del kit, dopo ogni utilizzo riposizionare i tappi degli erogatori e riporre immediatamente gli erogatori in frigorifero in posizione verticale.

Sul ogni kit è riportata la scadenza. Se conservato adeguatamente, il reagente resta stabile fino alla data indicata sull'etichetta. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza indicata.

Prelievo dei campioni e preparazione per l'analisi

I tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina trattati normalmente sono idonei all'uso con VENTANA DIG Detection Kit. Il fissativo per i tessuti consigliato è formalina neutra tamponata (NBF) al 10% per un periodo di 6-72 ore¹.

Tagliare i campioni in sezioni da 4 µm e riportarli su vetrini per microscopio caricati positivamente (Superfrost™ Plus). Drenare o asciugare i vetrini per rimuovere l'acqua in eccesso tra vetrino e tessuto prima della colorazione con lo strumento BenchMark IHC/ISH. Si possono ottenere risultati variabili dovuti allo spessore della sezione di tessuto, al tipo di fissazione, a una fissazione incompleta o prolungata oppure a processi particolari come la decalcificazione dei preparati di midollo osseo.

I vetrini caricati positivamente possono essere suscettibili a sollecitazioni ambientali con conseguente colorazione inadeguata di tutte le analisi ISH (ad esempio, assenza di colorazione o controcolorazione sul tessuto). Richiedere al proprio rappresentante Roche una copia del documento "Impact of environmental stress on various histology slide types" per comprendere meglio come utilizzare questi tipi di vetrini.

Si consiglia di processare qualsiasi vetrino di controllo contemporaneamente ai campioni sconosciuti. Tenere presente che il segnale del magenta subirà lente variazioni di tonalità nel tempo in caso di un'esposizione prolungata alla luce. Non è detto che ciò influisca sulla normale pratica clinica, ma è consigliabile conservare i vetrini al riparo dalla luce diretta quando non ne è previsto l'utilizzo.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico in vitro (IVD)
2. Solo per uso professionale.
3. **ATTENZIONE:** negli Stati Uniti le leggi federali consentono la vendita di questo dispositivo solo da parte di un medico o solo su prescrizione medica (Rx Only).
4. Non usare oltre il numero di test specificato.
5. La soluzione ProClin 300 è utilizzata come conservante in questa soluzione. È classificata come irritante e può causare sensibilizzazione tramite contatto cutaneo. Adottare precauzioni ragionevoli durante la manipolazione. Evitare il contatto dei reagenti con occhi, cute e membrane mucose. Indossare guanti e indumenti di protezione adeguati.
6. I materiali di origine umana o animale devono essere maneggiati come materiali a potenziale rischio biologico e smaltiti adottando precauzioni appropriate. In caso di esposizione, attenersi alle direttive sanitarie delle autorità responsabili^{2,3}.
7. Adottare precauzioni ragionevoli durante la manipolazione dei reagenti. Evitare il contatto dei reagenti con occhi, cute e membrane mucose. Utilizzare guanti monouso e indossare indumenti protettivi adeguati durante la manipolazione di possibili cancerogeni o materiali tossici.
8. Se i reagenti entrano in contatto con aree sensibili, lavare con acqua abbondante. Evitare l'inalazione dei reagenti.
9. Assicurarsi che il contenitore dei rifiuti sia vuoto prima di avviare una corsa di colorazione sullo strumento. Se non si prende questa precauzione, il contenitore dei rifiuti potrebbe traboccare e l'utilizzatore rischia di scivolare e cadere.
10. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti poiché può causare risultati non corretti.
11. Per ulteriori informazioni sull'uso di questo dispositivo fare riferimento alla guida per l'utilizzatore dello strumento BenchMark IHC/ISH e alle schede metodologiche di tutti i componenti necessari disponibili sul sito dialog.roche.com.
12. Consultare le autorità locali e/o statali per determinare il metodo di smaltimento consigliato.
13. Le etichette di sicurezza dei prodotti seguono principalmente le linee guida GHS dell'UE. La scheda dati di sicurezza è disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.
14. Per segnalare sospetti incidenti gravi correlati a questo dispositivo, contattare il rappresentante locale Roche e l'autorità competente dello Stato membro o del paese in cui risiede l'utilizzatore.

Questo kit di rilevazione contiene componenti classificati come segue in conformità con il regolamento (CE) n. 1272/2008:

Tabella 1. Informazioni sui pericoli.

Pericolo	Codice	Indicazione
	H317	Può provocare una reazione allergica cutanea.
	P261	Evitare di respirare la nebbia/i vapori.
	P272	Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.
	P280	Indossare guanti.
	P333 + P313	In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.
	P362 + P364	Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
	P501	Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto autorizzato per lo smaltimento dei rifiuti.

Contiene una miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one e 2-metil-2H-isotiazol-3-one in rapporto 3:1. Può provocare una reazione allergica.

PROCEDURA DI COLORAZIONE

VENTANA DIG Detection Kit è stato sviluppato per l'uso su strumenti BenchMark IHC/ISH in abbinamento ai reagenti ausiliari VENTANA. È possibile visualizzare, stampare e modificare i protocolli di colorazione conformemente alla procedura descritta nella guida per l'utilizzatore dello strumento. Altri parametri operativi per lo strumento sono stati preimpostati in fabbrica.

Le procedure per la colorazione su strumenti BenchMark IHC/ISH sono le seguenti. Per istruzioni più dettagliate e ulteriori opzioni di protocollo fare riferimento all'opportuna scheda metodologica della sonda o alla guida per l'utilizzatore.

Strumenti BenchMark IHC/ISH

1. Applicare l'etichetta del vetrino con codice a barre corrispondente al protocollo da eseguire.
2. Caricare la sonda, gli appositi erogatori del kit di rilevazione e il reagente accessorio richiesto sul vassoio reagenti e posizionarli sullo strumento.
3. Controllare i liquidi consumabili e svuotare il contenitore dei rifiuti.
4. Caricare i vetrini nello strumento.
5. Avviare la corsa di colorazione.
6. Al termine della corsa di colorazione, rimuovere i vetrini dallo strumento.
7. Passare alla sezione Procedure consigliate di processazione dopo l'utilizzo dello strumento.

Procedure consigliate di processazione dopo l'utilizzo dello strumento

Nota: per ottenere una disidratazione completa, i bagni di etanolo devono essere sostituiti frequentemente ed è possibile aggiungere un terzo bagno in etanolo al 100%.

1. Per rimuovere la soluzione Liquid Coverslip, lavare i vetrini in due soluzioni successive di un detergente delicato per stoviglie (non utilizzare detersivi per lavastoviglie automatiche).
2. Risciacquare i vetrini con acqua distillata per circa 1 minuto. Agitare per rimuovere l'acqua in eccesso.
3. Trasferire i vetrini in un bagno di etanolo al 90% per circa 1 minuto.
4. Trasferire i vetrini in un bagno di etanolo al 100% per circa 1 minuto.
5. Trasferire i vetrini in un secondo bagno di etanolo al 100% per circa 1 minuto.
6. Trasferire i vetrini in un bagno di xilene per circa 1 minuto.
7. Trasferire i vetrini in un secondo bagno di xilene per circa 1 minuto.
8. Applicare il coverslip (LCS) sul vetrino. Tenere presente che alcuni montanti non sono compatibili con VENTANA DIG Detection Kit (vedere la sezione Limitazioni).

PROCEDURA DI CONTROLLO QUALITÀ

Tessuto di controllo positivo

Acquisire un tessuto di controllo positivo per ogni procedura di colorazione eseguita. La pratica di laboratorio ottimale prevede l'inclusione di una sezione di tessuto di controllo positivo sullo stesso vetrino del tessuto del paziente. I componenti del tessuto a colorazione positiva sono utilizzati per confermare l'applicazione dei reagenti e il funzionamento corretto dello strumento. Questo tessuto può contenere cellule o componenti del tessuto con colorazione positiva e negativa e serve come controllo sia positivo che negativo. I tessuti di controllo interni sono utilizzati a discrezione dello sperimentatore principale e del patologo. I tessuti di controllo devono provenire da un'autopsia, da una biopsia o da campioni chirurgici preparati o fissati in modo identico alle sezioni da testare. Sezioni di tessuto fissate o processate diversamente rispetto al campione sottoposto a test serviranno da controlli di confronto per tutti i reagenti e le fasi del metodo interessate dalla fissazione e dalla processazione del tessuto.

I tessuti di controllo positivi noti devono essere utilizzati solo per il monitoraggio delle prestazioni corrette di tessuti trattati e reagenti di test, non come ausilio nella determinazione della diagnosi specifica dei campioni del paziente. Se i tessuti di controllo positivi non si colorano positivamente, i risultati ottenuti con i campioni del test devono essere considerati non validi.

Vedere l'opportuna scheda metodologica della sonda per indicazioni specifiche sul tessuto di controllo positivo.

Tessuto di controllo negativo

Se pertinente, vedere l'opportuna scheda metodologica della sonda.

Controllo positivo del reagente

Se pertinente, vedere l'opportuna scheda metodologica della sonda.

Discrepanze inspiegabili

Eventuali discrepanze inspiegabili nei controlli devono essere immediatamente riferite al rappresentante dell'assistenza locale. Se i risultati del controllo qualità non soddisfano le specifiche, i risultati dei pazienti non sono validi. Identificare e correggere il problema, ripetere quindi l'analisi dei campioni del paziente (fare riferimento alla sezione Risoluzione dei problemi).

Verifica dell'analisi

Prima dell'uso iniziale di un reagente in una procedura diagnostica, è necessario verificare le prestazioni del reagente effettuando l'analisi su una serie di campioni con caratteristiche prestazionali ISH note (fare riferimento alla scheda metodologica della sonda e alle indicazioni per il controllo qualità del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, della Anatomic Pathology Checklist,⁴ e alle CLSI Approved Guideline⁵). Ripetere queste procedure di controllo qualità per ciascun nuovo lotto di reagente oppure ogni volta che si modificano i parametri dell'analisi.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

VENTANA DIG Detection Kit provoca il legame covalente tra colorante magenta e residui di tirosina in prossimità della sequenza di acido nucleico ibridata dalla sonda. Un patologo qualificato con esperienza nelle procedure ISH dovrà valutare i controlli e qualificare il prodotto colorato prima di interpretare i risultati.

LIMITAZIONI

Limitazioni generali

1. L'ISH è una metodologia a più fasi che necessita di formazione specialistica nella scelta dei reagenti appropriati, nella preparazione dei campioni, nella processazione, nella preparazione del vetrino e nell'interpretazione dei risultati.
2. La colorazione tessutale dipende dalla manipolazione e dalla processazione del tessuto prima della colorazione. Condizioni inappropriate di fissazione, congelamento, scongelamento, lavaggio, asciugatura, riscaldamento, sezionamento o la contaminazione con altri tessuti o fluidi possono produrre artefatti, intrappolamento di reagente oppure risultati falsi negativi o falsi positivi. Variazioni nella fissazione e nei metodi di inclusione o le irregolarità intrinseche del tessuto possono provocare risultati incoerenti.
3. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere l'interpretazione corretta dei risultati.
4. L'interpretazione clinica della colorazione deve essere valutata nel contesto dell'anamnesi clinica, della morfologia e di altri criteri istopatologici. È responsabilità del patologo qualificato aver acquisito familiarità con i reagenti e i metodi utilizzati per produrre il preparato colorato. È necessario eseguire la colorazione in un laboratorio certificato e autorizzato, sotto la supervisione di un patologo

responsabile della revisione dei vetrini colorati e che garantisca l'adeguatezza dei controlli.

5. I reagenti VENTANA sono forniti a una diluizione ottimale per l'uso, purché le istruzioni fornite siano rispettate. Qualsiasi deviazione dalle procedure di test consigliate può inficiare i risultati attesi. È indispensabile utilizzare e documentare controlli appropriati. Gli utilizzatori che modificano le procedure di test consigliate si devono assumere ogni responsabilità relativamente all'interpretazione dei risultati dei pazienti.
6. I reagenti possono dare luogo a reazioni inattese in tessuti non testati precedentemente. La possibilità di reazioni inattese, anche in gruppi di tessuti già esaminati, non può essere completamente esclusa a causa della variabilità biologica dei tessuti. Contattare il rappresentante dell'assistenza locale per segnalare reazioni inattese documentate.

Limitazioni specifiche

1. VENTANA DIG Detection Kit è stato sviluppato per essere utilizzato con tessuti tagliati a uno spessore di 4 µm. La colorazione di sezioni più sottili/più spesse potrebbe risultare inadeguata o potrebbe verificarsi perdita di tessuto.
2. Non tutti i montanti potrebbero essere compatibili con il cromogeno magenta. Fare riferimento alla Tabella 2 per un elenco di montanti testati.
3. Conservare i vetrini colorati inutilizzati al buio per impedire che il cromogeno magenta subisca variazioni di tonalità.
4. Il kit di rilevazione, in abbinamento a sonde e accessori VENTANA, rileva la sequenza di acido nucleico che sopravvive alla fissazione in formalina, alla processazione e al taglio del tessuto normali. Come in qualsiasi altro test, un risultato negativo indica che il target specifico non è stato rilevato nel campione di tessuto, non che il target era assente nel tessuto originale non fissato.
5. Questo kit di rilevazione è stato ottimizzato per l'uso con i reagenti VENTANA su strumenti BenchMark IHC/ISH. Gli utilizzatori che modificano le procedure di test consigliate sono responsabili per l'interpretazione dei risultati del paziente in tali circostanze.
6. Non tutti i kit di rilevazione potrebbero essere registrati su ogni strumento. Contattare il rappresentante dell'assistenza locale per ulteriori informazioni.

Tabella 2. Compatibilità dei montanti.

Montanti	Produttore	Compatibile?
Acrytol	Electron Microscopy Sciences	Sì
Consul-Mount	Epredia	Sì
Cytoseal XYL	Richard Allan Scientific	Sì
Cytoseal 60	Richard Allan Scientific	Sì
Dako Mounting Medium	Dako	Sì
Diamount	Diapath	Sì
DPX Mountant	CDH	Sì
Entellan	Merck	Sì
Glycergel	Dako	Sì
HE600	Roche	Sì
HistoCore Spectra CV X1	Leica	Sì
Histomount	National Diagnostics	Sì
MicroMount	Leica	Sì
Canada Balsam	Elabscience	Sì
Permound	Electron Microscopy Sciences	Sì
Pertex	Histolab	Sì
Epredia Synthetic Mountant	Epredia	Sì
Sub-X Mounting	Leica	Sì
Tissue-Tek Film	Sakura	Sì
Entellan New	Merck	No
Eukitt	Merck	No

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Fare riferimento all'opportuna scheda metodologica della sonda per informazioni dettagliate sulle caratteristiche prestazionali.

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

1. Assicurarsi che la sezione sia stata tagliata con uno spessore di 4 µm e che sia stato utilizzato un montante compatibile.
2. Assicurarsi che gli erogatori del reagente non siano ostruiti o vuoti. Testare il funzionamento dell'erogatore puntando l'erogatore verso un contenitore dei rifiuti e premendo con decisione sulla parte superiore del fusto, assicurandosi che venga erogata una singola goccia. In caso di ostruzione dell'erogatore, o qualora l'erogazione risulti inadeguata, contattare il rappresentante dell'assistenza ed evitare di utilizzare l'erogatore.
3. In caso di dilavamento delle sezioni di tessuto dal vetrino, controllare i vetrini per assicurarsi che siano caricati positivamente.
4. Fare riferimento alla sezione Risoluzione dei problemi dell'opportuna scheda metodologica della sonda per soluzioni di risoluzione dei problemi specifiche dell'analisi.
5. Per l'azione correttiva, fare riferimento alla sezione Procedura di COLORAZIONE, alla guida per l'utilizzatore dello strumento oppure contattare il rappresentante dell'assistenza locale.

BIBLIOGRAFIA

1. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
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 18 September 2000 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: nel presente documento si utilizza sempre un punto come separatore decimale per separare la parte intera di un numero decimale da quella frazionaria. I separatori per le migliaia non sono utilizzati.

Simboli

Ventana usa i seguenti simboli e segni in aggiunta a quelli elencati nello standard ISO 15223-1 (per gli Stati Uniti: visitare il sito dialog. Roche.com per le definizioni dei simboli utilizzati):



Numero prodotto globale



Identificativo unico del dispositivo



Indica l'entità che importa il dispositivo medico nell'Unione europea

PROPRIETÀ INTELLETTUALE

VENTANA, BENCHMARK, HYBREADY, *ultraView*, e il logo VENTANA sono marchi commerciali di Roche. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi titolari.

Aggiunte, eliminazioni e modifiche sono segnalate da un'apposita barra a margine.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMAZIONI DI CONTATTO



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

