

PAS Staining Kit

REF	860-014
	05279291001
IVD	Σ 75

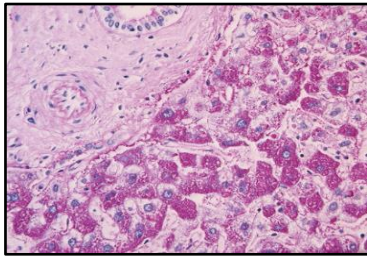


Fig. 1. Colorarea țesutului hepatic cu PAS Staining Kit.

DOMENIU DE UTILIZARE

PAS Staining Kit este destinat utilizării în laborator drept colorație histologică calitativă pentru a demonstra prezența glicogenului, membranei bazale și a organismelor fungice prin microscopia în câmp luminos în secțiunile de țesut fixat în formalină, înglobat în parafină (FFPE) pe un instrument BenchMark Special Stains.

Acest produs trebuie interpretat de un patolog calificat împreună cu

examenarea histologică, informațiile clinice relevante și controalele adecvate.

Acest produs este destinat pentru diagnosticarea in vitro (IVD).

REZUMAT ȘI EXPLICAȚIE

PAS Staining Kit este o modificare a unei tehnici descrise inițial de McManus în 1946 pentru vizualizarea mucinelor, glicogenului, membranei bazale și a organismelor fungice prin combinația dintre oxidarea polizaharidelor cu ajutorul acidului periodic și colorarea cu reactiv Schiff.¹

PAS este un colorant versatil pe bază de carbohidrați, care poate fi utilizat pentru a detecta structurile care conțin o proporție ridicată de macromolecule de carbohidrat, inclusiv polizaharide.¹ Principala polizaharidă identificată prin colorare histologică în secțiunile de țesut uman este glicogenul.¹

Colorarea cu PAS permite vizualizarea la microscop și evaluarea nivelurilor de glicogen din țesut.² Întreruperea căilor metabolice care convertesc glucoza în glicogen și invers pot conduce la acumularea de glicogen.² Caracteristicile clinice ale excesului de glicogen pot varia în funcție de organul/țesutul în care are loc acumularea.²

De asemenea, colorantul PAS este utilizat în examinarea membranelor bazale și este utilizat în mod tipic pentru a inspecta membrana bazală glomerulară în cazul biopsiilor renale cu suspiciune de afecțiune glomerulară.^{3,4} Afecțiunile glomerulare apar când are loc o întrerupere a barierei de filtrare glomerulară, care poate permite trecerea hematiilor sau a proteinelor plasmatice prin barieră.⁵ Caracteristicile patologice pot varia, dar pot include creșterea, colapsul, îngroșarea și subțierea membranei bazale.⁴

De asemenea, colorantul PAS poate fi utilizat pentru a detecta glicogenul prezent pe pereții celulari fungici ca ajutor în diagnosticarea unei infecții fungice.⁶ Conținutul de glicogen de pe perețele celulari fungici este asemănător în cazul mai multor fungi; prin urmare, colorarea cu PAS este o metodă fiabilă de confirmare sau eliminare a posibilității de infecție fungică.^{1,6}

PAS Staining Kit este utilizat pentru a ajuta patalogul în evaluarea nivelurilor de glicogen, precum și în diagnosticarea afecțiunilor glomerulare ale țesutului renal și a infecției cu organisme fungice.

PRINCIPIUL PROCEDURII

PAS Staining Kit utilizează reactivul Periodic Acid pentru oxidarea glicolilor în aldehide.¹ Schiff's Reagent reacționează cu aldehidele pentru a forma un compus de dialdehide incolor, care este transformat în colorația magenta a componentelor colorare care conțin glicol. Este aplicată o modificare a hematoxilinei Mayer pentru a oferi o colorare nucleară albastră spre mov.

Acest kit este optimizat pentru utilizarea pe instrumente BenchMark Special Stains. Reactivii se aplică pe țesutul de pe lamele de microscop și se amestecă cu întreaga probă.

MATERIALE FURNIZATE

Fiolele de reactiv sunt furnizate în transportatoare etichetate cu coduri de bare pentru introducerea în tava pentru reactiv a instrumentului. Fiecare kit conține reactiv suficient pentru 75 de teste:

O fiolă de 22 mL de Periodic Acid conține aproximativ 1% acid periodic.

Trei fiole de 22 mL de Schiff's Reagent conțin aproximativ 4% bisulfid de sodiu, aproximativ 2% acid clorhidric diluat și aproximativ 1% clorură de pararozanilină.

O fiolă de 22 mL de Neutralizer conține aproximativ 1% bisulfid de sodiu.

O fiolă de 22 mL de Hematoxylin Counterstain conține hematoxilina Mayer modificată.

Șase inserții pentru fiole cu tuburi de imersie.

Reconstituirea, amestecarea, diluarea și titrarea

Nu este necesară reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea reactivilor din kit. Diluarea suplimentară a oricăruia dintre reactivii poate genera o colorare nesatisfăcătoare.

Reactivii din acest kit au fost diluați în mod optim pentru utilizare pe instrumentele BenchMark Special Stains.

MATERIALE NECESARE, DAR CARE NU SUNT FURNIZATE

Este posibil să nu fie disponibile în toate zonele geografice toate produsele menționate în fișa de descriere a metodei. Consultați reprezentantul de asistență local.

Reactivii și materialele de mai jos pot fi necesari pentru colorare, dar nu sunt furnizați:

1. Țesutul de control recomandat
2. Lame de microscop, încărcate pozitiv
3. Instrumentul BenchMark Special Stains
4. BenchMark Special Stains Deparaffinization Solution (10X) (nr. cat. 860-036 / 06523102001)
5. BenchMark Special Stains Liquid Coverslip (nr. cat. 860-034 / 06523072001)
6. BenchMark Special Stains Wash II (nr. cat. 860-041 / 08309817001)
7. Echipament de laborator de uz general

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

PAS Staining Kit trebuie depozitat la temperaturi de 2–8 °C. Componentele congelate ale kitului trebuie aduse la temperatura camerei înainte de utilizare.

Dacă sunt stocați în mod adecvat, reactivii nedeschisi sunt stabili până la data trecută pe etichetă. Nu utilizați reactivul după data expirării indicată pe kit.

Notă: Schiff's Reagent este stabil timp de o lună după deschidere. Etichetați fiola Schiff cu data corespunzătoare la care a fost deschisă pentru prima dată. Kitul conține două flacoane suplimentare de Schiff's Reagent pentru a permite utilizarea în totalitate a kitului. Utilizați câte o singură fiolă de Schiff's Reagent la un moment dat.

Se cunoaște că Schiff's Reagent conține un precipitat ca acele. La niveluri așteptate, acest precipitat nu ar trebui să afecteze performanța testului. Trebuie efectuate controale simultan cu probe necunoscute. Contactați reprezentantul de asistență local dacă materialul controlului pozitiv prezintă o scădere a colorației, deoarece aceasta poate indica instabilitatea reactivului.

PREGĂTIREA PROBELOR

Țesuturile FFPE prelucrate în mod obișnuit sunt necesare pentru utilizarea cu acest produs și instrumentele BenchMark Special Stains. Fixatorul de țesut recomandat este formalina neutră tamponată 10%.⁷

Efectuați prelevarea și depozitarea probelor în conformitate cu Histotechnology: A Self Instructional Text.⁷ Tăiați secțiunile la grosimea adecvată, de aproximativ 4 μm, și plasați secțiunile pe lame din sticlă încărcate pozitiv.

1. Uscăți lamele.⁷
2. Tipăriți etichetele cu coduri de bare corespunzătoare.
3. Aplicați etichetele cu coduri de bare pe capătul înghețat al lamelor înainte de a încărca lamele pe instrument (consultați ghidul de utilizare aferent instrumentului pentru metoda corectă de aplicare a etichetelor).

Consultați secțiunea Instrucțiuni de utilizare pentru protocolul recomandat pentru instrumentul BenchMark Special Stains.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Pentru diagnosticarea in vitro (IVD).
2. Doar pentru uz profesional.
3. A nu se depăși numărul de teste specificat.

- Lamele încărcate pozitiv pot fi susceptibile la factori de mediu care duc la colorarea inadecvată. Cereți reprezentantului dvs. Roche mai multe informații privind modul de utilizare a acestor tipuri de lame.
- Materialele de origine umană sau animală trebuie considerate materiale care prezintă pericol biologic și eliminate cu măsurile de precauție adecvate. În cazul expunerii, trebuie respectate instrucțiunile de sănătate comunicate de autoritățile responsabile.^{8,9}
- Evitați contactul reactivului cu ochii și membranele mucoase. Dacă reactivii intră în contact cu zonele sensibile, spălați-le cu apă din abundență.
- Evitați contaminarea microbiană a reactivilor, deoarece aceasta poate duce la obținerea unor rezultate incorecte.
- Pentru mai multe informații privind utilizarea acestui dispozitiv, consultați ghidul de utilizare a instrumentului BenchMark Special Stains și instrucțiunile de utilizare a tuturor componentelor necesare de la navifyportal.roche.com.
- Consultați autoritățile locale și/sau de stat cu privire la metoda de eliminare recomandată.
- Etichetarea de securitate a produsului respectă în principal instrucțiunile GHS din UE. Fișa cu date de securitate este disponibilă utilizatorilor profesioniști la cerere.
- Pentru a raporta suspiciunile privind incidentele grave referitoare la acest dispozitiv, contactați reprezentantul local Roche și autoritatea competentă a Statului Membru sau a Țării în care este stabilit utilizatorul.

Acest produs include componente clasificate după cum urmează conform Regulamentului (CE) nr. 1272/2008:

Tabelul 1. Informații privind pericolele.

Pericol	Cod	Declarație
	H290	Poate fi coroziv pentru metale.
	H314	Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.
	H350	Poate cauza cancer.
	H373	Poate provoca leziuni ale organelor în caz de expunere prelungită sau repetată.
	P201	Înainte de utilizare, obțineți instrucțiuni speciale.
	P260	Nu inspirați ceața sau vaporii.
	P280	Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței/echipament de protecție acustică.
	P303 + P361 + P353	ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau părul): Scoateți imediat toată îmbrăcăminte contaminată. Clătiți pielea cu apă.
	P304 + P340 + P310	ÎN CAZ DE INHALARE: Transportați persoana la aer liber și mențineți-o într-o poziție confortabilă pentru respirație. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic.
	P305 + P351 + P338 + P310	ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Îndepărtați lentilele de contact, dacă acestea există și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic.
P308 + P313	ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul.	

EUH208: Conține iodat de sodiu. Poate produce o reacție alergică.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Prepararea fiolei de reactiv

Înainte de prima utilizare, în fiola de reactiv trebuie plasate o inserție de fiolă și un tub de imersie.

Îndepărtați capacul de transport de pe fiolă și plasați inserția și tubul în fiolă. Odată ce fiola a fost deschisă, inserția și tubul de imersie trebuie lăsate în fiolă.

Procedura de colorare

- Încărcați reactivii și lamele pe instrument.
- Plasați capacul moale în slotul de pe suportul de reactivi atunci când reactivul este în curs de utilizare.
- Efectuați ciclul de colorare în conformitate cu protocolul recomandat în Tabelul 2 și instrucțiunile din Ghidul de utilizare.
- La sfârșitul testării, îndepărtați lamele de pe instrument.
- Utilizați capacul moale pentru a închide fiola de reactiv atunci când reactivul nu este în curs de utilizare.
- După utilizare, depozitați reactivii în conformitate cu condițiile de depozitare recomandate.

Protocol recomandat

Parametrii pentru procedurile automate pot fi afișați, tipăriți și editați conform procedurii din ghidul de utilizare a instrumentului.

Următoarele proceduri permit flexibilitatea de adaptare la preferințele utilizatorului. Acest produs a fost optimizat pentru utilizarea cu instrumentele BenchMark Special Stains, dar utilizatorul trebuie să valideze rezultatele obținute cu acest produs.

Tabelul 2. Protocolul de colorare recomandat pentru PAS Staining Kit pe un instrument BenchMark Special Stains.

Procedura de colorare	S PAS
Etapă protocol*	Metodă
Deparafinare	Selectați pentru îndepărtarea automată a parafinei.
Coacere (opțional)	Opțiunea implicită nu este selectată. Se recomandă coacerea la 75 °C timp de 4 minute.
Optimizare PAS	Selectați pentru a permite ajustări ale PAS Schiff's și Hematoxylin.
Optimizare Schiff's pentru PAS (PAS Schiff's)	<p>Temperatura implicită este de 45 °C timp de 20 minute.</p> <p>Selectați pentru a permite ajustarea intensității colorației.**</p> <p>Selectați o temperatură cuprinsă în intervalul 37–60 °C:</p> <ul style="list-style-type: none"> 37 °C, intensitate mai deschisă a colorației Schiff 60 °C, intensitate mai închisă a colorației Schiff <p>Selectați un timp de incubare cuprins în intervalul 12–20 minute:</p> <ul style="list-style-type: none"> 12 minute, intensitate mai deschisă a colorației Schiff's 20 minute, intensitate mai închisă a colorației Schiff's.
PAS Hematoxylin	<p>Timpul implicit este de 8 minute.</p> <p>Selectați pentru a permite ajustarea timpului de incubare:**</p> <ul style="list-style-type: none"> 4 minute, colorație nucleară mai deschisă 12 minute, colorare nucleară mai închisă

* Pentru a ajusta preferințele privind colorația, creșteți temperatura de colorare și timpul de incubare cu câte un parametru odată.

** Pentru a ajusta preferințele privind colorația, creșteți temperatura de colorare și timpul de incubare cu câte un parametru odată.

Post-prelucrare recomandată a instrumentului

- Deshidratați lamele în două schimburi de etanol 95% pentru a îndepărta reziduurile de soluție, urmate de trei schimburi de etanol 100%.
- Curățați lamele în 3 schimburi de xilen 100%.

3. Aplicați lamelele de acoperire cu mediu de fixare permanent.
4. Compatibil cu protocolul de aplicare a lamelor de acoperire aferent sistemului VENTANA HE 600. Pentru mai multe instrucțiuni, consultați Ghidul de utilizare a sistemului VENTANA HE 600.

PROCEDURI DE CONTROL DE CALITATE

Un exemplu de material cu control pozitiv ar fi țesutul uman FFPE de cunoscut ca fiind bogat în glicogen, precum mușchiul scheletic sau ficatul. Țesutul de control trebuie să fie o probă obținută în urma autopsiei recente, biopsiei sau intervenției chirurgicale, preparată sau fixată cât mai repede posibil, în mod identic cu secțiunile de testare. Aceste țesuturi trebuie să monitorizeze toate etapele de analiză, de la prepararea țesutului până la colorare.

Utilizarea unei secțiuni de țesut fixat sau prelucrat diferit de probele de test oferă control pentru toți reactivii și etapele metodei, cu excepția fixării și a prelucrării țesutului. Componentele celulare ale altor elemente de țesut pot servi drept control negativ.

Practica de laborator optimă este aceea de a include o secțiune de control pozitiv pe aceeași lamă cu țesutul de test. Acest lucru ajută la identificarea oricăror eșecuri prin aplicarea reactivului pe lamă. Țesutul de control poate conține elemente de colorare atât pozitive cât și negative și servește în calitate de control pozitiv dar și negativ.

Țesutul de control trebuie testat la fiecare testare.

Controalele cu țesut pozitiv cunoscute trebuie utilizate doar pentru monitorizarea performanțelor corecte ale țesuturilor procesate și reactivilor de testare, nu ca mijloc auxiliar de determinare a unui diagnostic specific al probelor pacientului.

Dacă componentele cu țesut pozitiv nu demonstrează colorarea pozitivă, rezultatele cu probele de testare trebuie considerate nevalide. Dacă componentele cu țesut negativ demonstrează colorarea pozitivă, rezultatele cu probele de la pacient trebuie considerate nevalide, de asemenea.

Discrepanțele nejustificate din rezultatele controlului trebuie comunicate imediat reprezentantului dvs. de asistență local. Dacă rezultatele controlului de calitate nu corespund specificațiilor, rezultatele pacientului nu sunt valide. Cauza trebuie identificată și corectată, iar probele de la pacient trebuie prelevate din nou.

INTERPRETAREA COLORĂRII/REZULTATE PRECONIZATE

PAS Staining Kit este testat pentru a demonstra glicogenul, fungi și membranele bazale.

- Glicogen: magenta
- Mucine: 7 magenta
- Membrană bazală: magenta
- Fungi: magenta
- Nuclee: de la albastru la mov
- Fond: roz

LIMITĂRI SPECIFICE

Pentru acest test au fost utilizate și validate doar lame de microscop încărcate pozitiv. Se cunoaște că Schiff's Reagent conține un precipitat ca acele. La nivelurile așteptate, acest precipitat nu ar trebui să afecteze performanța testului.

Un precipitat de culoare roz până la roșu, în formă de cub a fost observat pe lamelele colorate cu PAS Staining Kit. La nivelurile așteptate, acest precipitat nu ar trebui să interfereze cu interpretarea testului.

CARACTERISTICILE DE PERFORMANȚĂ

PERFORMANȚĂ ANALITICĂ

Au fost desfășurate teste de colorare pentru sensibilitate, specificitate și precizie, rezultatele fiind menționate mai jos.

Sensibilitate și specificitate

Au fost evaluate sensibilitatea și specificitatea analitice pentru cazurile de țesut normal și cu afecțiuni. Toate cazurile de țesut evaluate (61/61) au fost promovate ca având colorație acceptabilă, după cum este prezentat în Tabelul 3 și Tabelul 4.

Tabelul 3. Sensibilitatea/specificitatea PAS Staining Kit a fost determinată prin testarea următoarelor țesuturi FFPE normale.

Țesut	Nr. cazuri promovate/nr. testate
Rinichi	5 / 5

Țesut	Nr. cazuri promovate/nr. testate
Ficat	5 / 5
Intestinul subțire	5 / 5
Mușchi scheletic	10 / 10

Tabelul 4. Sensibilitatea/specificitatea PAS Staining Kit a fost determinată prin testarea următoarelor țesuturi FFPE cu afecțiuni.

Țesut	Nr. cazuri promovate/nr. testate
Candida (diferite tipuri de țesut)	8 / 8
Aspergillus (diferite tipuri de țesut)	10 / 10
Glomeruloscleroză segmentară focală (Rinichi)	4 / 4
Boală glomerulară (Rinichi)	5 / 5
Glomerulonefrită membranoasă (Rinichi)	1 / 1
Glomerulonefrită membranoproliferativă (Rinichi)	2 / 2
Nefropatie lupică (Rinichi)	4 / 4
Glomeruloscleroză diabetică (Rinichi)	2 / 2

Precizie

Precizia PAS Staining Kit a fost determinată pentru mai multe testări, zile, instrumente și loturi de reactiv, utilizând mai multe lame tăiate de la 3 cazuri de țesut hepatic normal și 3 cazuri de țesut renal normal. Toate criteriile de acceptanță au fost îndeplinite integral. Au fost efectuate studii de precizie pentru PAS Staining Kit, în conformitate cu Tabelul 5.

Tabelul 5. Studii de precizie efectuate asupra lamei pentru PAS Staining Kit.

Parametrii testați	Nr. de condiții	Nr. lame promovate/nr. testate
Între testări	3 testări, aceeași zi	54 / 54
Între zile	5 zile	88 / 90
Între instrumente	3 instrumente	52 / 54
În cadrul aceleiași testări	aceeași zi, același instrument	53 / 54
Între loturi	3 loturi	54 / 54

PERFORMANȚĂ CLINICĂ

Caracteristicile de sensibilitate și specificitate relevante pentru domeniul de utilizare al acestui dispozitiv sunt raportate în secțiunea privind performanța analitică. În plus, datele publicate relevante pentru dispozitiv au fost evaluate prin analiza sistematică a literaturii și susțin, de asemenea, utilizarea dispozitivului în conformitate cu domeniul său de utilizare.

DEPANARE

1. Grosimea secțiunii poate afecta calitatea și intensitatea colorației. În cazul în care colorația nu este corespunzătoare, contactați reprezentantul dvs. de asistență local.
2. Țesutul necrotic sau autolizat poate prezenta colorare nespecifică.
3. În cazul în care controlul pozitiv este negativ, este posibil ca țesutul să fi fost prelevat, fixat sau deparafinat în mod necorespunzător. Urmați procedura adecvată pentru prelevare, depozitare și fixare.
4. În cazul în care controlul pozitiv este negativ, asigurați-vă că lama are eticheta cu codul de bare corectă. Dacă lama este etichetată corect, verificați celelalte controale pozitive din aceeași testare pentru a determina dacă acestea au fost colorate în mod corespunzător.
5. Dacă apare colorarea de fond excesivă: îndepărtarea incompletă a parafinei poate cauza artefacte de colorare sau lipsa colorării. Dacă nu este îndepărtată toată

parafina de pe lamă, repetați ciclul de colorare utilizând opțiunea de deparafinare extinsă, dacă este disponibilă.

6. Dacă secțiunile de țesut sunt spălate de pe lamă, confirmați că lamele sunt încărcate pozitiv.
7. Staționarea extinsă a lamelor pe instrument după finalizarea testării poate afecta calitatea și intensitatea colorației. În cazul în care colorația nu este adecvată, îndepărtați lamele imediat la sfârșitul testării și continuați cu post-prelucrarea instrumentului.
8. Pentru acțiuni corective, consultați secțiunea Instrucțiuni de utilizare, ghidul de utilizare a instrumentului sau contactați reprezentantul dvs. de asistență local.

REFERINȚE

1. Layton C, Bancroft JD. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. In: Elsevier; 2019. Accessed 02/15/2021.
2. Kanungo S, Wells K, Tribett T, et al. Glycogen Metabolism and Glycogen Storage Disorders. Ann Transl Med. 2018;6(24):474.
3. McManus JFA. The Periodic Acid Routine Applied to the Kidney. Am J Pathol. 1948;6:43-653.
4. Cathro HP, Shen SS, Truong LD. Diagnostic Histochemistry in Medical Diseases of the Kidney. Semin Diagn Pathol. 2018;35(6):360-369.
5. Hebert LA, Parikh S, Prosek J, et al. Differential Diagnosis of Glomerular Disease: A Systematic and Inclusive Approach. Am J Nephrol. 2013;38(3):253-266.
6. Guarner J, Brandt ME. Histopathologic Diagnosis of Fungal Infections in the 21st Century. Clin Microbiol Rev. 2011;24(2):247-280.
7. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
8. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
9. 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.

NOTĂ: Punctul este utilizat întotdeauna în acest document ca separator zecimal pentru a marca limita dintre numărul întreg și părțile fracționale ale unui număr zecimal. Nu se utilizează separatoare pentru mii.

Simboluri

Ventana utilizează următoarele simboluri și semne în plus față de cele menționate în standardul ISO 15223-1 (pentru SUA: consultați elabdoc. Roche.com/symbols pentru mai multe informații).

GTIN Numărul global al articolului comercial

(Rx only) Pentru SUA: Atenție: Legislația federală restricționează vânzarea acestui dispozitiv de către sau la ordinul unui medic.

ISTORICUL REVIZIILOR

Rev.	Actualizări
K	Au fost efectuate actualizări ale secțiunii Avertizări și măsuri de precauție și au fost actualizate în șablonul actual.

PROPRIETATE INTELECTUALĂ

VENTANA, BENCHMARK și VENTANA HE sunt mărci comerciale ale Roche. Toate celelalte nume de produs și mărci comerciale reprezintă proprietatea deținătorilor respectivi.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMAȚII DE CONTACT



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

